



Titre: Étude de la performance de piles à combustible microbiennes et
Title: l'effet des matériaux d'électrodes

Auteur: Edith Martin
Author:

Date: 2011

Type: Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

Référence: Martin, E. (2011). Étude de la performance de piles à combustible microbiennes
Citation: et l'effet des matériaux d'électrodes [Thèse de doctorat, École Polytechnique de
Montréal]. PolyPublie. <https://publications.polymtl.ca/573/>

 **Document en libre accès dans PolyPublie**
Open Access document in PolyPublie

URL de PolyPublie: <https://publications.polymtl.ca/573/>
PolyPublie URL:

**Directeurs de
recherche:** Oumarou Savadogo, & Boris Tartakovsky
Advisors:

Programme: Génie métallurgique
Program:

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉTUDE DE LA PERFORMANCE DE PILES À COMBUSTIBLE
MICROBIENNES ET L'EFFET DES MATÉRIAUX D'ÉLECTRODES

EDITH MARTIN

DÉPARTEMENT DE GÉNIE CHIMIQUE
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

THÈSE PRÉSENTÉE EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLÔME DE PHILOSOPHIÆ DOCTOR
(GÉNIE MÉTALLURGIQUE)

AVRIL 2011

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Cette thèse intitulée:

ÉTUDE DE LA PERFORMANCE DE PILES À COMBUSTIBLE MICROBIENNES ET
L'EFFET DES MATÉRIAUX D'ÉLECTRODES

Présentée par : MARTIN Edith

en vue de l'obtention du diplôme de : Philosophiæ Doctor

a été dûment accepté par le jury d'examen constitué de :

M.PERRIER Michel, Ph.D., président

M.SAVADOGO Oumarou, D. d'état, membre et directeur de recherche

M.TARTAKOVSKY Boris, Ph.D., membre et codirecteur de recherche

M.SRINIVASAN Bala, Ph.D., membre

M.JUCK David, Ph.D., membre

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier plusieurs personnes qui furent indispensables pour moi tout au long de ce cheminement en me permettant d'accomplir et de terminer cette thèse par leur présence, leur soutien, leur assistance et leur encouragement.

Tout d'abord, je remercie mon directeur de recherche, M. Oumarou Savadogo, pour ses conseils judicieux, son expertise et son savoir, de même que ses incessants encouragements dans les moments plus difficiles.

Je remercie aussi mon codirecteur de recherche, M. Boris Tartakovsky, pour sa patience, sa rigueur, sa compétence, sa disponibilité et sa coopération qui m'ont permis de mener ce long projet à terme.

Je remercie l'École Polytechnique de Montréal, l'Institut de Recherche en Biotechnologie du Conseil National de Recherches Canada (IRB-CNRC) et le Conseil de Recherches en Sciences Naturelles et en Génie du Canada (CRSNG) pour avoir permis l'aboutissement de ce diplôme de doctorat, financièrement et matériellement.

Je tiens à souligner l'appui et l'encouragement de Mmes Michelle-France Manuel, Huimin Tian et Carole Massicotte qui m'ont épaulée pendant mes essais en laboratoire, que ce soit dans l'apprentissage du fonctionnement des piles à combustible microbiennes, des techniques et manipulations pour les essais électrochimiques ou pour tout autre besoin en matière d'équipement et de matériel. J'ai de plus particulièrement apprécié les longues discussions sur les événements et péripéties de la vie. Plusieurs autres personnes m'ont aussi été d'une aide appréciable en laboratoire, notamment Jérôme Breton, Marc Lacroix, Stéphane Deschamps et Marie-Josée Lévesque.

Les différentes personnes que j'ai côtoyées, tant à l'École Polytechnique qu'à l'Institut de Recherche en Biotechnologie, furent une présence très agréable durant mon parcours.

Mes amis et amies ont su m'apporter encouragement mais aussi divertissement, me permettant de repartir sur une bonne note après une mauvaise période. Je remercie spécialement Mireille & David (et Leyla!), Daniel & Valérie, Thomas & Élisabeth, David, Colin et Françoise.

Le soutien de ma famille a été tout aussi essentiel à mon équilibre et à ma recherche de sagesse durant cette période de ma vie, mais je tiens à remercier spécialement ma sœur Céline, son conjoint Guy et leurs enfants, de même que mes parents et beaux-parents.

Je tiens à souligner la présence de mes deux matous, qui ont su me relaxer de par leurs ronrons et leur affection inconditionnelle, tout en mettant de la vie dans la maison pendant ma période de rédaction.

Finalement, un merci tout spécial à Joël, mon conjoint et homme de ma vie, pour toute la patience et l'encouragement dont il a toujours su faire preuve malgré mes humeurs en montagnes russes, et pour tout l'amour et la joie dont il sait m'emplir chaque jour. Sans toi, je ne serais pas rendue où je suis aujourd'hui! Je t'aime! ♥

RÉSUMÉ

Les récents changements climatiques ont amené une toute autre dimension au domaine de l'énergie puisqu'on se doit maintenant de changer ce qui constitue notre source principale, les carburants fossiles. Des alternatives explorées est survenue la pile à combustible microbienne, une source d'énergie permettant à la fois l'enlèvement des matières organiques contenues dans les eaux usées et la génération d'électricité. Fonctionnant avec plusieurs types de composés organiques, cette technologie prometteuse peut être implantée dans de multiples milieux: usines d'épuration des eaux usées, exploitations et industries agroalimentaires et installations de pâtes et papiers. Cette technologie ouvre ainsi la porte à la production universelle d'électricité à bon marché puisque tout pays génère une quantité substantielle d'eaux usées et de biomasse.

Étant donné la complexité d'un tel système entremêlant microbiologie, électrochimie et phénomènes d'échange au sein d'un réacteur, il est important d'analyser la performance des piles microbiennes sous diverses conditions expérimentales. Ce projet a donc pour objectif d'améliorer la compréhension générale conduisant à la maximisation des performances d'une telle pile. Il est supposé que le fonctionnement des piles à combustible microbiennes est influencé par les conditions d'opération de même que par le développement du biofilm et d'autres limitations. Il est également approprié de présumer que les matériaux d'électrodes ont eux aussi des conséquences soit sur l'activité des microorganismes ou encore la réactivité de la réaction électrochimique. Ainsi, diverses conditions d'opération et configurations sont testées pour permettre d'identifier les effets concrets de ces changements sur la performance des piles. Aussi, le développement du biofilm est étudié en profondeur sous diverses conditions afin d'améliorer l'échange d'électrons à l'interface du biofilm actif et de l'anode.

Les expérimentations de ce projet sont effectuées sur une pile microbienne à une seule chambre et ne contenant pas de membrane à échange ionique, pile inoculée à l'aide de boues anaérobies et approvisionnée de substrats simples (glucose, acétate). La pile est généralement opérée à température ambiante et à pH neutre. Le suivi périodique du courant généré par la pile microbienne tout au long de son opération a permis de noter l'évolution de la croissance du biofilm anodique ainsi que son activité. Les caractéristiques de la pile (résistance interne et résistance des électrodes, courant et puissance générés) ont été évaluées à l'aide des techniques de polarisation et de spectroscopie d'impédance électrochimique. La voltammétrie cyclique a

permis l'observation de l'activité électrochimique des microorganismes électricigènes et la détermination de leur potentiel d'oxydoréduction, de même que la réversibilité du système ainsi que sa limitation par la diffusion. Par ailleurs, il est possible d'évaluer les modifications lors de l'opération des piles sous diverses conditions à l'aide de calculs, soit l'efficacité de l'enlèvement des matières organiques ainsi que le rendement coulombique (efficacité de la transformation de la charge organique en électricité). Pour se faire, la chromatographie gazeuse est utilisée pour évaluer la concentration de substrat en solution ou encore la constitution des gaz générés au sein du réacteur. Finalement, diverses analyses complémentaires nous renseignent quant à la dispersion, la taille et la forme des microorganismes sur les électrodes (microscopies optique et électronique) et sur le relâchement d'ions métalliques provenant des cathodes testées (spectrométrie d'absorption atomique).

Ces expérimentations et analyses ont permis de cibler divers effets pouvant améliorer la performance de la pile à combustible microbienne. Ainsi, l'influence de la charge organique (avec glucose et acétate), du pH et de la température d'opération de la pile a été montrée et des valeurs optimales ont été déterminées, conduisant à une augmentation significative de l'activité du biofilm anodique et à une diminution de l'activité des méthanogènes, ces derniers réduisant l'efficacité coulombique en déviant une quantité non négligeable du substrat à leur profit. Or, une charge organique de 2 à 4 g L⁻¹ jour⁻¹, un pH entre 6,25 et 6,5 de même qu'une température élevée à la cathode (62°C) mais modérée à l'anode (30°C) a amené un accroissement de la puissance maximale générée à 19,2 W m⁻³. Durant les expériences effectuées avec l'acétate comme substrat, la distance entre les électrodes de même que le volume de la pile ont été diminués, conduisant à une puissance volumique de 92,4 W m⁻³. Toutes ces observations font l'objet du premier article présenté dans cette thèse.

Puisque la puissance générée par la pile est fonction du nombre de microorganismes électricigènes peuplant le biofilm, cette relation est approfondie dans le second article. Ce dernier, dont le but était d'étudier le développement du biofilm, met en lumière l'influence de la vitesse de variation de la charge externe lors de la croissance du biofilm actif. Ainsi, lorsque la charge externe est ajustée rapidement pour avoisiner la valeur de la résistance interne de la pile, l'échange d'électrons est favorisé, de même que la prolifération des microorganismes responsables de la génération de ces électrons. En favorisant la croissance plus rapide des microorganismes électricigènes, les autres espèces non-électricigènes sont quelque peu

désavantagées et la consommation du substrat participe principalement à la production d'électricité plutôt que tout autre produit non désiré (ex. : méthane). Cet article démontre aussi l'influence du degré de développement du biofilm sur la limitation par diffusion de la réaction anodique, limitation qui s'accroît à mesure que le biofilm croît.

Le troisième article éclaire la cause de la diffusion du transfert de charge à l'anode. Ainsi, la variation de la charge organique d'acétate dans des piles microbiennes dont l'anode est formée de carbone sous forme de feutre (3D) et de papier (2D) de même que la baisse de la conductivité de l'électrolyte a permis de cibler la diffusion des protons hors du biofilm comme facteur limitant de la génération de courant. De plus, une réaction électrochimique secondaire a été identifiée à l'anode, celle-ci créant une augmentation de la résistance de cette électrode et par le fait même, une légère diminution de la puissance produite. Finalement, les multiples analyses électrochimiques ont permis d'établir avec une grande certitude que le mécanisme de transfert d'électrons effectué par les microorganismes électrogènes est par contact direct avec l'anode soit des microorganismes eux-mêmes ou de la matrice conductrice du biofilm, les cytochromes étant responsables du transport d'électrons dans les deux cas.

Le dernier article traite de l'évaluation de nouveaux matériaux de cathodes (carbone, Mn_2O_3 et Fe_2O_3) comparativement à une cathode de platine. Ces matériaux ont été choisis pour leur potentiel à stimuler le développement de microorganismes pouvant influencer l'activité de la cathode afin d'obtenir une biocathode; toutefois ce phénomène n'a pas été vérifié. Néanmoins, il a été constaté que les différents matériaux de cathodes effectuaient tous la réduction de l'oxygène tel qu'observé sur le platine, et que l'activité des catalyseurs cathodiques peut devenir un facteur limitant important de la performance des piles microbiennes. Or, le Mn_2O_3 s'est avéré une bonne voie à explorer comme matériau de remplacement du platine.

Somme toute, le rendement obtenu dans nos expérimentations ne surpasse pas encore les bioréacteurs générant du méthane à partir d'eaux usées. Aussi, plusieurs aspects doivent être améliorés afin de voir leur implantation en milieux industriels, soit l'utilisation de matériaux cathodiques efficaces et peu coûteux ainsi que l'amélioration de la configuration et l'agrandissement d'une pile à haut rendement. Des alternatives intéressantes se situent au niveau de leur transposition pour le traitement d'eaux contaminées par certains métaux lourds (uranium, cuivre) ou pour la génération d'hydrogène à la cathode en imposant de l'électricité au système.

ABSTRACT

Recent climate change has brought a whole new dimension to the energy field since now we must change our primary source, fossil fuels. The microbial fuel cell (MFC) technology emerged as a result of recent efforts in the development of alternative sources of energy. The MFC technology provides organic matter removal in wastewater along with electricity generation. Functioning with many types of organic compounds, this promising technology may be implemented in multiple settings: sewage treatment plants, farms and food processing plants and pulp and paper industries. This technology opens the door to universal and inexpensive electricity production since every country generates a substantial amount of wastewater and biomass.

Given the complexity of such system combining microbiology, electrochemistry and transport phenomena in a reactor, it is important to analyze the performance of microbial fuel cells under various experimental conditions. This project therefore aims to improve the general understanding that leads to the performance maximization of such cell. It is assumed that the microbial fuel cells' functioning is influenced by the operation conditions as well as the biofilm development and other limitations. It is also appropriate to suppose that the electrode materials also have consequences on either the microorganisms' activity or the electrochemical reaction reactivity. Thus, various operating conditions and configurations are tested to identify the specific effects of these changes on cell performance. Also, the development of the biofilm is extensively studied under various conditions to improve the electrons transfer between the active biofilm and the anode.

Experiments in this project are performed in a membraneless single-chamber microbial cell inoculated with anaerobic sludge and supplied with simple substrates (glucose, acetate). The cell is generally operated at room temperature and neutral pH. Periodic monitoring of the current generated by microbial fuel cell throughout its operation permitted to notice the evolution of anodic biofilm growth and activity. The cell characteristics (internal and electrodes resistance, current and power generation) were evaluated using polarization and electrochemical impedance spectroscopy techniques. Cyclic voltammetry allowed the observation of the electrochemical activity of anode-reducing microorganisms and determination of their redox potential, as well as the system reversibility and its diffusion limitation. Moreover, it is possible to evaluate changes in the fuel cells operation under various conditions using calculations of organic matter removal

effectiveness and coulombic efficiency (conversion efficiency of substrate to electricity). For these calculations, gas chromatography is used to evaluate the substrate concentration in solution or the generated gas composition within the reactor. Finally, various further tests show the distribution, size and shape of microorganisms on the electrodes (light and electron microscopies) and the release of metal ions from the cathode tested (atomic absorption spectroscopy).

These experiments and analyses permitted to identify various effects that can improve the microbial fuel cell performance. Thus, the influence of organic load (of glucose and acetate), pH and operating temperature of the fuel cell has been shown and optimal values were determined, leading to a significant increase in the anodic biofilm activity and a decrease of the methanogens activity, the latter reducing the coulombic efficiency by diverting a non-negligible substrate amount for their benefit. Hence, organic loading of 2 to 4 g L⁻¹ day⁻¹, pH between 6,25 and 6,5 as well as high cathode temperature (62 °C) but moderate anode temperature (30 °C) caused a maximum power generation increase to 19,2 W m⁻³. During the experiments with acetate as substrate, distance between electrodes and fuel cell volume have been reduced, leading to a power density of 92,4 W m⁻³. All these observations are the subject of the first article presented in this thesis.

Since the microbial fuel cell power generation depends on the number of anode-reducing microorganisms populating the biofilm, this relationship was deepened in the second manuscript. This article, which intended to monitor the biofilm development, highlights the influence of external load changing rate during the active biofilm growth. Thus, when the external load is adjusted rapidly to approach the cell internal resistance, electrons exchange is enhanced as well as the proliferation of microorganisms responsible of these electrons generation. By promoting faster anode-reducing microorganisms growth, other species are somewhat disadvantaged and substrate consumption is primarily involved in the electricity production rather than any other unwanted products (eg.: methane). This article also demonstrates the influence of the biofilm development level on the diffusion limitation of the anodic reaction, a limitation that becomes more pronounced as the biofilm grows.

The third article clarifies the diffusion limitation of the charge transfer at the anode. Therefore, the organic load variation of acetate in microbial fuel cells with carbon felt (3D) and carbon paper (2D) anodes as well as the electrolyte conductivity decrease has targeted protons diffusion

out of the biofilm as the current generation limitation. In addition, a secondary electrochemical reaction has been identified at the anode, creating an electrode resistance increase and thereby a slight power output decrease. Finally, multiple electrochemical analyses helped to establish with certainty that the electron transfer mechanism carried out by anode-reducing microorganisms is by direct contact with the anode via microorganisms themselves or the conductive biofilm matrix, cytochromes being responsible for the electrons transport in both cases.

The last manuscript deals with new cathode materials (carbon, Mn_2O_3 and Fe_2O_3) evaluation in comparison to a platinum cathode. These materials were chosen for their potential to stimulate the proliferation of microorganisms capable of influencing cathode activity in order to obtain a biocathode; however, this phenomenon has not been verified. Nevertheless, it was found that the different cathode materials were all performing oxygen reduction reaction as observed with platinum, and that cathodic catalysts activity can become a major limiting factor of microbial cell performance. However, the Mn_2O_3 was found to be a good alternative to investigate as platinum replacement material.

Overall, the performance obtained in our setup does not yet surpass bioreactors that generate methane from wastewater. Also, several aspects should be improved in order to see their implementation in industries, for instance the use of effective and inexpensive cathode materials as well as the setup improvement and the enlargement of a high performance microbial fuel cell. Interesting alternatives reside in their transposition for treatment of heavy metals contaminated water (uranium, copper) and for hydrogen generation at the cathode by injecting electricity in the system.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	III
RÉSUMÉ.....	V
ABSTRACT	VIII
TABLE DES MATIÈRES	XI
LISTE DES TABLEAUX.....	XV
LISTE DES FIGURES.....	XVII
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	XX
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE 1 REVUE DE LITTÉRATURE	6
1.1 Fonctionnement d'une pile à combustible microbienne	6
1.2 Inoculum, micro-organismes électricigènes et substrats	10
1.2.1 Inoculum à population mixte.....	10
1.2.2 Souches pures de micro-organismes électricigènes	12
1.2.3 Substrats utilisés comme combustibles	14
1.3 Opération et configurations des piles à combustible microbiennes	15
1.3.1 Modes et conditions d'opération des piles	15
1.3.2 Configurations des piles	16
1.4 Matériaux d'électrodes employés dans les piles microbiennes.....	19
1.4.1 Matériaux d'anodes	19
1.4.2 Matériaux de cathodes.....	23
1.4.2.1 Cathodes abiotiques.....	24
1.4.2.2 Biocathodes	28
1.5 Aspects électrochimiques des piles à combustible microbiennes	32

CHAPITRE 2	DÉMARCHE ET ORGANISATION DE LA RECHERCHE.....	37
CHAPITRE 3	THE INFLUENCE OF OPERATIONAL CONDITIONS ON THE PERFORMANCE OF A MICROBIAL FUEL CELL SEEDED WITH MESOPHILIC ANAEROBIC SLUDGE.....	41
3.1	Abstract	41
3.2	Introduction	41
3.3	Materials and methods	42
3.3.1	MFC design and operation	42
3.3.2	Inoculum, media composition, and analytical methods	44
3.3.3	Electrical measurements and calculations.....	44
3.4	Results	45
3.4.1	Glucose tests.....	45
3.4.2	Acetate tests.....	49
3.4.3	pH-stat tests	51
3.4.4	Temperature tests	53
3.5	Discussion	54
3.6	Conclusion.....	59
3.7	Acknowledgments	59
3.8	References	59
CHAPITRE 4	ELECTROCHEMICAL CHARACTERIZATION OF ANODIC BIOFILM GROWTH IN A MICROBIAL FUEL CELL.....	63
4.1	Abstract	63
4.2	Introduction	63
4.3	Materials and methods	64
4.3.1	MFC design and operation	64

4.3.2	Inoculum, media composition and analytical methods	65
4.3.3	Protein measurements	65
4.3.4	Electrochemical measurements	66
4.4	Results and discussion.....	67
4.5	Conclusion.....	77
4.6	Acknowledgement.....	78
4.7	References	78
CHAPITRE 5 ELECTROCHEMICAL STUDY OF THE EFFECT OF THE ANODIC BIOFILM LIMITATIONS ON THE PERFORMANCES OF MICROBIAL FUEL CELLS		81
5.1	Abstract	81
5.2	Introduction	81
5.3	Materials and methods	82
5.3.1	MFC design and operation	82
5.3.2	Inoculum, media composition and analytical methods	83
5.3.3	Electrochemical measurements	84
5.4	Results	86
5.4.1	Effect of acetate concentration	86
5.4.2	Effect of electrolyte conductivity	89
5.4.3	Effect of external load	92
5.5	Discussion	94
5.5.1	MFC resistance evaluation	94
5.5.2	Anodic secondary electrochemical process.....	95
5.5.3	Concentration losses – current density limitation	96
5.5.4	Electron transfer mechanism and limitations	98
5.6	Conclusion.....	100

5.7	Acknowledgement.....	101
5.8	References	101
CHAPITRE 6 CATHODE MATERIALS EVALUATION IN MICROBIAL FUEL CELLS: A COMPARISON OF CARBON, Mn_2O_3 , Fe_2O_3 AND PLATINUM MATERIALS		106
6.1	Abstract	106
6.2	Introduction	106
6.3	Materials and methods	108
6.3.1	Cathode preparation	108
6.3.2	MFC design and operation	108
6.3.3	Inoculum and media composition	110
6.3.4	Electrochemical measurements	110
6.3.5	Analytical methods and calculations	112
6.4	Results	113
6.5	Discussion	121
6.6	Conclusion.....	126
6.7	Acknowledgements	127
6.8	References	127
CHAPITRE 7 DISCUSSION GÉNÉRALE		132
7.1	Conditions d'opération et configuration des piles.....	132
7.2	Anodes et cathodes.....	139
7.3	Synthèse des résultats.....	143
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS		149
RÉFÉRENCES.....		152

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1 : Matériaux testés à l'anode dans les piles à combustible microbiennes.....	22
Tableau 1.2 : Matériaux de cathodes abiotiques testés dans les piles à combustible microbiennes	26
Tableau 1.2 : Matériaux de cathodes abiotiques testés dans les piles à combustible microbiennes (suite et fin)	27
Table 3.1: Operational conditions and MFC-1 performance observed in glucose, pH, and temperature tests. The MFC was operated at $R_{ext} = 200 \Omega$	49
Table 3.2: Dependence of MFC-2 performance on acetate load and acetate concentration in the anodic chamber. MFC was operated at $R_{ext} = 35 \Omega$	51
Table 3.3: MFC-1 performance during temperature tests. The underlined values indicate temperature set points and the thermocouple used for temperature control	54
Table 4.1: Characterization of MFC1 and MFC2 operated with a fast adjustment of R_{ext} resulting in $R_{ext} \sim R_{int}$	68
Table 4.2: Characterization of MFC3 and MFC4 operated with a slow adjustment of R_{ext} resulting in $R_{ext} \gg R_{int}$	69
Table 5.1: Operating conditions tested in each MFC	84
Table 5.2: MFCs characterization of carbon paper (MFC1) and carbon felt (MFC2) at various OLR	87
Table 5.3: Characterization under low and standard electrolyte conductivity in MFC2 and MFC4	90
Table 5.4: Characterization of MFC3 under R_{ext} of 30 and 100 Ω	92
Table 5.5: MFC3 anode resistance by EIS characterization under operational external load (R_{ext}) of 30 and 100 Ω during polarization curves.....	94
Table 6.1: Electrochemical parameters of cathodic materials under atmospheres of air and O_2 ..	114

Table 6.2: ORR onset potentials of cathodic materials under atmospheres of O ₂ and N ₂ in a half-cell	116
Table 6.3: COD removal and coulombic efficiency (CE) of cathodic materials under atmospheres of air and O ₂	120
Table 6.4: Iron and manganese concentrations in MFC and half-cell solutions for C, Fe ₂ O ₃ and Mn ₂ O ₃ cathodes	121
Tableau 7.1 : Puissance, taux de méthane produit et efficacité obtenus en variant la charge organique dans deux types de piles à combustible microbiennes	133
Tableau 7.2 : Puissance, taux de méthane produit et efficacité obtenus en variant le pH	135
Tableau 7.3 : Puissance, taux de méthane produit et efficacité obtenus en variant la température des électrodes	136
Tableau 7.4 : Puissance et efficacité obtenues en variant la conductivité de l'électrolyte	138
Tableau 7.5 : Puissance et efficacité obtenues en opérant la pile à différentes charges externes	139
Tableau 7.6 : Puissance et efficacité obtenues avec des anodes de feutre et de papier de carbone	140
Tableau 7.7 : Puissance et efficacité obtenues avec des cathodes de carbone, Fe ₂ O ₃ , Mn ₂ O ₃ et Pt	142
Tableau 7.8 : Comparaison de la puissance de piles à combustible microbiennes	145
Tableau 7.9 : Comparaison de la puissance de différentes cathodes de carbone	146
Tableau 7.10 : Comparaison de la puissance de différentes cathodes d'oxydes de manganèse ..	147
Tableau 7.11 : Comparaison de la puissance de différentes cathodes à base de fer	148
Tableau 7.12 : Comparaison de la puissance de différentes cathodes de platine dans des piles microbiennes de configuration et conditions d'opération similaires	148

LISTE DES FIGURES

Figure 1-1 : Exemple de transport intracellulaire d'électrons (Omc : cytochrome de la membrane externe; Ppc : cytochrome périplasmique)	7
Figure 1-2 : Fonctionnement d'une pile à combustible microbienne.....	8
Figure 1-3 : Mécanismes de transfert des électrons à l'anode via : A) nanofils, B) médiateurs externes et C) par transfert direct via protéines intramembranaires.....	9
Figure 1-4 : Mécanismes de transfert d'électrons au sein d'un biofilm issu d'un consortium : A) via un médiateur produit par la bactérie; B) via cytochrome où la bactérie électrigène oxyde un sous-produit généré par une autre espèce; C) via médiateur produit par une autre espèce; et D) via contact direct d'un cytochrome ou de nanofils.....	11
Figure 1-5 : Divers designs de piles à combustible microbiennes	18
Figure 1-6 : Anodes formées de fibres de carbone sous forme de brosse (A) et de feutre (B) (C : grossissement de 150X)	20
Figure 1-7 : Biocathode où s'effectuent la réduction et la déposition du MnO_2	30
Figure 1-8 : Courbe de polarisation d'une pile à combustible microbienne (noire) et pertes associées : activation (rouge), ohmiques (vert) et concentration (bleu).....	34
Figure 2-1 Résumé de la démarche et de l'organisation de la thèse	38
Figure 3-1: Diagram of continuous flow MFC setup (left panel) and anodic chamber diagram showing positions of heaters, thermocouples, and electrodes (right panel).....	43
Figure 3-2: Polarization (A) and power (B) curves obtained at different organic loads of glucose in MFC-1. The curves were acquired by decreasing external resistance from 5000 to 5 Ω with 10 min intervals between resistance changes.....	47
Figure 3-3: The effect of organic load in MFC-1 on (A) cell internal resistance, power generation at optimal R_{ext} , and (B) substrate flux distribution for electricity and methane production. P_{max} and R_{int} were estimated in polarization tests (Fig. 3-2) performed at each organic load. Substrate fluxes were estimated based on a methane yield of 0,35 L g-COD ⁻¹ and an electron yield of n=24 for glucose. All tests were carried out at pH 7 (OLR: organic load rate).....	48

Figure 3-4: Polarization (A) and power (B) curves obtained in MFC-2 at different organic loads of acetate. Electrode potentials were acquired against an Ag/AgCl reference electrode using a potentiostat	50
Figure 3-5: The effect of pH on (A) cell internal resistance, power generation at optimal R_{ext} , and (B) substrate flux distribution for electricity and methane production. All tests were carried out in MFC-1 at a glucose load of $1,9 \text{ g L}_A^{-1} \text{ day}^{-1}$	52
Figure 3-6: Approximation of power and methane production rates observed in the glucose fed MFC-1 (A), and acetate-fed MFC-2 (B) by Andrews (power output) and Monod (methane production) dependencies. Power outputs obtained in polarization tests at $R_{ext}=R_{int}$ were used for the approximation.....	56
Figure 4-1: A two time-constant model	67
Figure 4-2: Anode polarization (A,C) and power (B, D) curves obtained during polarization tests in MFC2 operated at $R_{ext} \sim R_{int}$ (A,B) and in MFC4 operated at $R_{ext} > R_{int}$ (C,D).....	71
Figure 4-3: (A) Measurements of time-related evolution of protein concentration at the anode and current density; (B) anode OCP and R_{int} measurements. MFC2 and MFC5 were operated at $R_{ext} \sim R_{int}$, while MFC3 and MFC4 were operated at $R_{ext} > R_{int}$	72
Figure 4-4: Anode EIS spectra observed during (A) days 0-15; and (B) days 15-28 of MFC2 operation.....	73
Figure 4-5: Cyclic voltammograms of anode obtained during MFC2 ($R_{ext} \sim R_{int}$) (A) and MFC4 ($R_{ext} > R_{int}$) (B) operation. CVs were acquired at a scan rate of 100 mV s^{-1}	75
Figure 4-6: Anodic peak current density ($i_{p,a}$) acquired during CV tests at 50 mV s^{-1} for MFC2 operated at $R_{ext} \sim R_{int}$ and MFC4 operated at $R_{ext} > R_{int}$	76
Figure 4-7: Dependence of the normalized anodic peak current density (i/i_{min}) on the square root of the scan rate measured during MFC4 test ($R_{ext} > R_{int}$)	77
Figure 5-1: Polarization (A, C) and power curves (B) of MFC1 under various OLRs.....	88
Figure 5-2: EIS spectra of MFC1 (A) and MFC2 (B) at various OLRs.....	89
Figure 5-3: Cyclic voltammograms of MFC2 during acetate exhaustion at time 0 and after 3, 6, 12 and 24 hours (scan rate of 50 mV s^{-1})	90

Figure 5-4: Dependence of the normalized anodic peak current density ($i_{p,a}/i_{p,a,min}$) with the square root of the scan rate for MFC 2 (A, B, D) and MFC3 (C) at various OLRs (A), during acetate exhaustion (B, C) and at low electrolyte conductivity (D)	91
Figure 5-5: Polarization (A) and power (B) curves of MFC3 operated at R_{ext} of 30 and 100 Ω ...	93
Figure 5-6: Cyclic voltammograms of MFC3 before and after biofilm damage caused by high cathodic counter current generation (scan rate of 5 mV s ⁻¹)	100
Figure 6-1: MFC setup diagram showing external resistance (R_{ext}), recirculation loop, influent and gas entries, effluent and gas exits, anodic windowed plate (1), anode (2), J-cloth [®] (3), cathode (4), cathodic windowed plate (5) and closing plates (6 and 7)	109
Figure 6-2: Three time constants equivalent circuit for EIS data fitting.....	111
Figure 6-3: EIS spectra of cathodes inserted in MFCs.....	115
Figure 6-4: Voltammograms of cathode materials at 5 mV/s, 10 days after insertion (inset: Mn_2O_3 reduction peak into Mn^{2+})	116
Figure 6-5: Polarization (A) and power (B) curves of cathodic materials in air 10 days after insertion in MFCs.....	118
Figure 6-6: Polarization (A) and power (B) curves and electrodes potential (C) during polarization of Fe_2O_3 cathode in air, N_2 and O_2 atmospheres	119

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

Δt	Intervalle de temps [s]
η	Surtension [Ω]
v	Vitesse de balayage [$V s^{-1}$]
b	Pente de Tafel
i	Densité de courant [$A m^{-2}$]
i_0	Densité de courant limite [$A m^{-2}$]
$k_{m,s}$	Constante de demi-saturation de la production de méthane [$mg L^{-1}$]
$k_{p,I}$	Constante d'inhibition de la puissance produite [$mg L^{-1}$]
$k_{p,S}$	Constante de demi-saturation de la puissance produite [$mg L^{-1}$]
n	Nombre d'électrons par mole de substrat [$e^{-} mol^{-1}$]
pH	Potentiel hydrogène
p_m	Puissance volumétrique maximale [$W m^{-3}$]
r_{CH_4}	Taux de production de méthane [$L_{CH_4} L^{-1} jour^{-1}$]
r_m	Taux volumétrique maximale de production de méthane [$L_{CH_4} L^{-1} jour^{-1}$]
AGV	Acides gras volatiles
CE_A	Rendement coulombique apparent (Apparent Coulombic Efficiency)
COD	Demande chimique en oxygène (Chemical Oxygen Demand)
CPE	Élément de phase constant (Constant Phase Element)
CV	Voltammétrie cyclique (Cyclic Voltammetry)
E^0	Potentiel théorique dans les conditions standards [V]
EIS	Spectroscopie d'impédance électrochimique (Electrochemical Impedance Spectroscopy)

E_{fem}	Force électromotrice d'une pile
$E^{\text{mesuré}}$	Potentiel mesuré expérimentalement [V]
E_{MFC}	Potentiel de la pile à combustible microbienne [V]
ENH	Électrode normale à hydrogène
E_{OCP}	Potentiel en circuit ouvert (open circuit potential) [V]
E_{redox}	Potentiel d'oxydo-réduction [V]
ESEM	Microscope électronique à balayage à chambre environnementale (Environmental Scanning Electron Microscope)
E^{th}	Potentiel théorique dans les conditions d'expérimentations [V]
E_{VCO}	Voltage (ou tension) en circuit ouvert [V]
E_{work}	Potentiel de travail [V]
F	Constante de Faraday [C mol^{-1}]
F_L	Taux de circulation de liquide [L s^{-1}]
FRA	Analyseur de réponse en fréquence (Frequency Response Analyzer)
GC	Chromatographie gazeuse (Gas chromatography)
GDE	Électrode à diffusion gazeuse (Gas Diffusion Electrode)
HPLC	Chromatographie liquide à haute performance (High-Performance Liquid Chromatography)
I	Courant [A, A m^{-2}]
M	Masse moléculaire [g]
MFC	Pile à combustible microbienne (Microbial Fuel Cell)
NHE	Électrode normale à hydrogène (Normal Hydrogen Electrode)
OCP	Potentiel en circuit ouvert (Open Circuit Potential) [V]
OCV	Voltage en circuit ouvert (Open Circuit Voltage) [V]
ORR	Réaction de réduction de l'oxygène (Oxygen Reduction Reaction)

PDA	Détecteur à photodiodes (PhotoDiode Array)
P	Puissance produite [W m^{-3}]
P_{max}	Puissance maximale [W , W m^{-3}]
PT	Test de polarisation (Polarization Test)
R	Constante universelle des gaz parfaits [$\text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$]
R_A	Résistance de l'anode [Ω]
R_C	Résistance de la cathode [Ω]
R^{ct}	Résistance au transfert de charge [Ω]
R_{ext}	Résistance (ou charge) externe [Ω]
R_{int}	Résistance interne [Ω]
R^{oth}	Autre résistance [Ω]
R_s	Résistance de la solution [Ω]
R_{Ω}	Résistance ohmique [Ω]
S	Concentration du substrat dans la majeure partie de la solution [g L^{-1}]
SCE	Électrode à calomel saturé (Saturated Calomel Electrode)
S_{in}	Concentration du substrat dans l'affluent [g L^{-1}]
T	Température [K , $^{\circ}\text{C}$]
V	Voltage (ou tension) [V]
V_{app}	Potentiel appliqué [V]
VCO	Voltage (ou tension) en circuit ouvert [V]
VFA	Acides gras volatiles (Volatile Fatty Acids)
VSS	Solides volatiles en suspension (Volatile Suspended Solids)
W	Quantité de substrat consommé [g]
W_E	Quantité de substrat équivalent

INTRODUCTION

Durant les dernières années, le besoin de diminuer notre dépendance aux hydrocarbures s'est fait de plus en plus pressant. Nous ressentons progressivement l'urgence de mettre fin à cette ère de l'énergie fossile puisque la disponibilité de ce combustible est particulièrement réduite et que son extraction nécessite des technologies plus avancées, polluantes et parfois dévastatrices sur l'environnement, causant au bout du compte l'augmentation du prix du baril de pétrole. De plus, cette source d'énergie génère des gaz à effets de serre lors de sa combustion, agissant ainsi sur les changements climatiques qui perturbent à leur tour l'environnement et les écosystèmes fragiles de notre planète exceptionnelle à l'équilibre précaire.

L'avènement récent de sources énergétiques relativement non polluantes et renouvelables, tels le vent, l'eau, les marées et le soleil, a ouvert la porte à une approche énergétique moderne. La recherche innove ainsi promptement en ce sens, ces sources étant de plus en plus exploitées et de nouvelles étant aussi prospectées. C'est ainsi que les déchets organiques liquides et solides, souvent difficiles à traiter, sont désormais une source originale d'énergie sous diverses formes, et ce, en ayant établi une collaboration étroite entre l'ingéniosité humaine et certaines aptitudes bactériennes surprenantes.

Les avantages de cette coopération technologie/bactéries sont édifiants. D'abord, les déchets organiques solides et liquides sont une des ressources les plus abondantes, naturelles et universelles. Deuxièmement, les micro-organismes sont des agents fort travaillants ne nécessitant qu'un environnement propice à leur croissance et leur bonne métabolisation, soit nutriments et minéraux. Finalement, plusieurs bactéries possèdent la capacité de produire soit du méthane, de l'hydrogène ou encore de l'électricité, trois sources d'énergie devenant ainsi accessibles et abordables avec l'utilisation de systèmes optimisés et performants.

La génération d'électricité par des micro-organismes dégradant des composés organiques a été démontrée au début du vingtième siècle par Michael Cresse Potter (Potter, 1911). Cette découverte a perdu de son intérêt pendant plusieurs années, mais a gagné beaucoup d'attention pendant l'exploration spatiale, ce projet de recherche ayant été récupéré par la NASA qui cherchait à recycler les déchets humains (Schroder, 2007). Dans les deux dernières décennies, plusieurs équipes de recherche se sont tournées vers cette alternative étonnante et d'immenses progrès ont été faits au niveau entre autres des dispositifs utilisés et des micro-organismes

électrigènes (pouvant générer de l'électricité), augmentant substantiellement la quantité d'énergie pouvant être produite (Franks & Nevin, 2010). Cette propriété exceptionnelle a conduit au développement de réacteurs biologiques générant de l'électricité appelés « piles à combustible microbiennes ».

Une pile à combustible microbienne est un système permettant de coupler le traitement d'eaux usées riches en matières organiques et inorganiques avec la génération d'électricité. Comme son nom l'indique, le système étudié est une pile, donc elle comporte deux bornes (ou électrodes), l'anode et la cathode. Les micro-organismes jouent ici le rôle de catalyseurs à une des électrodes de la pile, dégradant toutes substances pouvant leur être utiles et excréant par la suite des produits qui seront utilisés à leur tour à l'autre électrode. Il est à noter que le terme catalyseur n'est pas tout-à-fait approprié puisque les bactéries conservent une partie de l'énergie générée par la dégradation des composés organiques pour combler leurs propres besoins (Schroder, 2007).

Le fonctionnement des piles à combustible microbiennes repose conséquemment sur des réactions (bio)électrochimiques siégeant à l'anode et à la cathode (les détails de leur fonctionnement seront traités ultérieurement dans le chapitre 1). Plusieurs facteurs agissent sur les réactions anodiques et cathodiques, et par le fait même, sur la performance générale des piles microbiennes. Ainsi, l'atteinte des objectifs poursuivis dans le présent travail de recherche se fera principalement en utilisant des techniques électrochimiques reconnues et employées pour la caractérisation des piles et piles à combustible, permettant de cibler les diverses influences et leurs effets sur les réactions électrochimiques, donc sur la puissance électrique pouvant être ultimement générée par les piles microbiennes étudiées.

Tel que mentionné précédemment, plusieurs changements apportés aux piles microbiennes ont permis l'amélioration notable des performances des systèmes. Par contre, plusieurs des aspects modifiés sont spécifiques au design ou aux conditions d'opération des réacteurs utilisés, d'où la nécessité d'étudier sous plusieurs angles le système qui sera employé pour la présente étude afin d'en optimiser son fonctionnement. Les objectifs principaux de ce projet sont donc :

- d'évaluer les performances de la pile à combustible microbienne utilisée en laboratoire en identifiant ses limitations sous diverses conditions;
- d'étudier les réactions électrochimiques et phénomènes de transfert de charges qui siègent aux électrodes, soit à l'anode et la cathode.

Les facteurs et limitations pouvant modifier le fonctionnement des piles microbiennes sont reliés entre autres à la réactivité des (bio)catalyseurs ou des matériaux d'électrodes ainsi qu'à diverses conditions d'opération. Afin d'atteindre les deux objectifs principaux, plusieurs objectifs spécifiques ont donc été établis, soit :

- l'étude de la puissance générée par la pile à combustible microbienne, ses limitations (pertes causées par la résistance interne de la pile et le transport des différentes espèces) ainsi que son efficacité (enlèvement des matières organiques, efficacité électrique) en diverses situations:
 - conditions d'opération : variation de la concentration du substrat, du pH, de la conductivité, de la température de l'électrolyte et de la charge externe entre l'anode et la cathode;
 - lors du développement du biofilm selon deux vitesses d'ajustement de la charge externe;
 - avec divers matériaux d'anodes (papier ou feutre de carbone) et de cathodes (Pt, Fe_2O_3 , Mn_2O_3 et C);
- l'étude des réactions et phénomènes siégeant aux électrodes:
 - en fonction du développement du biofilm;
 - en fonction des matériaux d'électrodes utilisés (structure, composition).

Les multiples expérimentations et résultats issus du présent travail de recherche seront donc synthétisés et exposés dans cette thèse en plusieurs chapitres. Le premier chapitre présentera une revue critique de la littérature afin d'expliquer toute la théorie se rapportant au sujet traité. Y sera expliqué entre autres le fonctionnement détaillé de la pile à combustible microbienne, les micro-organismes impliqués et les substrats pouvant être dégradés par ces derniers, de même que les différentes configurations des réacteurs, les matériaux d'électrodes utilisés jusqu'à présent et les aspects électrochimiques nécessaires à la compréhension de la thèse.

Les chapitres subséquents seront composés de quatre articles scientifiques. Le premier article vise à apporter une meilleure compréhension de diverses conditions d'opération influençant les performances du type de pile à combustible microbienne étudié, observations pouvant être transposées à certains autres types de piles microbiennes. Les variations de ces conditions

permettront d'identifier la compétition entre les populations électrigènes et méthanogènes toutes deux présentes au sein du réacteur, de même que de cibler l'effet des diverses conditions sur l'un et l'autre des types de micro-organismes. Ainsi, la concentration en substrat (glucose, acétate), le pH et la température de l'électrolyte sont variés sur une gamme de valeurs tout en effectuant le suivi des performances des piles microbiennes (courant et puissance générés, résistance interne) ainsi que des taux d'enlèvement de matières organiques et de production de méthane. Connaissant les conséquences des conditions d'opération, il est possible d'optimiser la génération d'électricité des piles à combustible microbiennes en favorisant les espèces électrigènes et en limitant la méthanogénèse. Cette étude a aussi démontré l'utilité de diminuer la distance entre les électrodes de même que le volume de la pile, conduisant à une plus grande puissance volumique générée par la pile microbienne.

Le second article contribue à mieux cerner le développement du biofilm formé à l'anode selon des conditions d'opération différentes, le biofilm anodique étant l'élément clé de toutes piles microbiennes. Ainsi, l'influence de la vitesse d'ajustement de la charge externe reliant l'anode et la cathode sur l'activité des microorganismes responsables de la génération d'électricité sera étudiée par diverses techniques électrochimiques. Une adaptation rapide de la charge externe afin qu'elle s'approche de la résistance interne de la pile microbienne et un ajustement lent de cette même charge sont effectués. Ces variations permettent d'identifier le rôle de l'aptitude de l'anode à capter les électrons générés et son influence sur le développement des diverses espèces microbiennes, de même que la variation des performances découlant de ces deux modes d'opération (courant et puissance, résistance de la pile et des électrodes, limitations causées par la diffusion, enlèvement de l'acétate). Puisque cette étude mène à une meilleure connaissance de l'impact de la vitesse d'ajustement de la charge externe sur l'activité du biofilm anodique, il devient encore une fois possible d'optimiser les performances des piles à combustible microbiennes en favorisant la croissance et la prolifération des espèces électrigènes au sein du biofilm formé lors du démarrage de la pile.

Le troisième article porte sur l'analyse approfondie par techniques électrochimiques des performances et limitations de la pile microbienne dont le biofilm anodique est à maturité, et ce, en fonction de la variation de certaines conditions d'opération. De plus, deux matériaux anodiques, soit du carbone sous forme de feutre et de papier, seront testés afin d'évaluer l'influence de la géométrie de l'anode (2D vs 3D). Ainsi, la variation de la concentration

d'acétate de l'affluent pour les deux types d'anode, le changement de la conductivité de l'affluent ainsi que l'effet de la charge externe seront évalués dans des piles microbiennes. Ces modifications permettent de déterminer leur effet sur les processus électrochimiques siégeant aux électrodes, leur influence sur les limitations par la diffusion au sein du biofilm et sur la performance générale des piles microbiennes (courant et puissance, résistance, etc.). Ces connaissances peuvent contribuer au perfectionnement des systèmes en optimisant les conditions d'opération de même qu'en améliorant certains aspects du design, tout ceci dans le but de réduire les limitations dues à la diffusion qui conduiront à un meilleur fonctionnement des piles à combustible microbiennes.

Le dernier article porte sur l'essai de trois matériaux de cathode comme alternative au platine visant à stimuler le développement de biocathodes. Ainsi, des cathodes conçues en laboratoire comportant des poudres de carbone et des oxydes de manganèse (Mn_2O_3) et de fer (Fe_2O_3) sont installées dans des piles microbiennes. Seront évaluées par la suite la réaction cathodique de même que la performance des électrodes en fonction du temps (puissance, résistance, etc.) afin de noter une amélioration ou une diminution de l'activité de la cathode. Ces résultats permettent de conclure quant à l'effet du biofilm cathodique aérobie s'étant formé à sa surface et son possible rôle sur la réaction de réduction de l'oxygène ayant lieu à la cathode. Ces observations contribueront à améliorer le développement de nouveaux matériaux cathodiques à base de métaux non nobles pouvant effectuer la réduction de l'oxygène.

Le chapitre final consiste en une discussion générale faisant ressortir les résultats clés ayant découlés de ces expérimentations tout en les reliant à la littérature, appuyant ou non certaines observations et théories ayant été émises sur les piles microbiennes. De plus, le potentiel de cette technologie relativement nouvelle sera évalué en rapport à d'autres méthodes de production d'électricité considérées comme des alternatives « vertes ». Suivront finalement des recommandations basées sur les résultats obtenus, permettant d'orienter des recherches futures sur les piles à combustibles microbiennes tant sur le choix du design du système, de l'optimisation des conditions d'opération que des nouveaux matériaux de cathodes.

CHAPITRE 1 REVUE DE LITTÉRATURE

Plusieurs éléments influencent le fonctionnement des piles à combustible microbiennes, c'est pourquoi il est essentiel d'explorer toutes les facettes de ce système. Effectivement, tant le design du réacteur, les matériaux utilisés que les micro-organismes électricigènes peuvent affecter la puissance générée (Pham, Aelterman & Verstraete, 2009). Ainsi, le présent chapitre s'applique à décrire plus en détails le fonctionnement des piles à combustible microbiennes, les sources et types de micro-organismes utilisés pour inoculer les réacteurs de même que les substrats (combustibles) pouvant approvisionner les micro-organismes. De plus, les différents modes opératoires et configurations des piles microbiennes, de même que les matériaux d'électrodes employés seront approfondis, et les aspects électrochimiques étudiés au cours de la thèse seront éclaircis.

1.1 Fonctionnement d'une pile à combustible microbienne

Tel que brièvement exposé en introduction, la pile à combustible microbienne est un dispositif utilisant comme catalyseurs les bactéries qui forment un biofilm à l'anode et y oxydent les matières organiques et inorganiques avec l'ultime objectif de générer un courant électrique. Cette propriété est possible grâce à la respiration intracellulaire effectuée par les micro-organismes, processus leur permettant de subvenir à leur besoins énergétiques (Franks, Malvankar & Nevin, 2010; Schroder, 2007).

Pendant la métabolisation des composés organiques par les micro-organismes, les substrats sont oxydés, produisant ainsi des électrons (e^-) à l'intérieur de la bactérie. Ceux-ci sont par la suite éjectés de la cellule par une multitude de réactions cellulaires jusqu'au dernier échange avec l'accepteur final d'électron, situé à l'extérieur de la bactérie (Logan *et al.*, 2006; Shukla, Suresh, Berchmans & Rajendran, 2004). La chaîne respiratoire intracellulaire transportant les électrons et les protons peut comporter la déshydrogénase, les quinones, les coenzymes Q, les protéines fer/soufre et les cytochromes (Rabaey & Verstraete, 2005). La figure 1-1 présente le schéma d'un exemple de transport intracellulaire des électrons au sein de micro-organismes.

Les composés organiques peuvent aussi être fermentés, dépendamment de la complexité du substrat et des micro-organismes présents. Dans ce cas précis, une fraction du composé organique dégradé sert elle-même d'accepteur d'électrons et est réduite, alors qu'une autre part s'oxyde. Ce

processus apporte toutefois le plus faible gain énergétique aux micro-organismes l'effectuant (Heider & Fuchs, 1997; Schroder, 2007). Les parties des composés organiques qui sont réduites lors de la fermentation peuvent par la suite servir à leur tour de substrat pour d'autres espèces microbiennes (Freguia, Rabaey, Yuan & Keller, 2008).

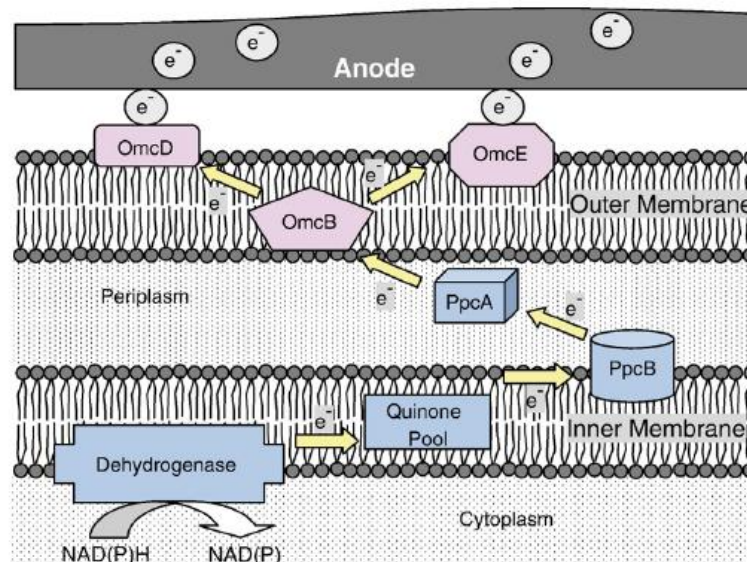


Figure 1-1 : Exemple de transport intracellulaire d'électrons (Omc : cytochrome de la membrane externe; Ppc : cytochrome périplasmique) (Du, Li & Gu, 2007)

Tel qu'illustré à la figure 1-1, les électrons générés par la métabolisation microbienne sont transférés de la bactérie à l'anode, la vitesse de ce transfert pouvant être augmentée en ajoutant un surfactant (ex. : Tween 80) qui accroît la perméabilité membranaire (Wen, Kong, Ma, Ren & Pan, 2011). Ils voyagent ensuite par le biais d'un circuit électrique externe jusqu'à la cathode où ils sont consommés pour effectuer la réduction de l'oxygène (voir figure 1-2). Cette réaction, qui sera détaillée à la section 1.5, nécessite aussi les protons (H^+) qui sont également produits par les micro-organismes lors de l'oxydation des substrats, ceux-ci diffusant de l'anode à la cathode dans l'électrolyte (Logan *et al.*, 2006).

Divers mécanismes de transfert des électrons entre les bactéries et l'anode sont proposés : 1) par le biais de nanofils conducteurs, appendices externes conducteurs formés de protéines et produits par la bactérie, 2) par l'intermédiaire de médiateurs externes effectuant la navette entre la bactérie et l'anode, et 3) par contact direct via des protéines intramembranaires tel qu'illustré à la figure 1-1. De plus, la matrice du biofilm formé sur l'anode est conductrice, permettant le transport

d'électrons éjectés entre les bactéries très éloignées de la surface et cette dernière, ce transfert étant effectué par des composantes telles que des nanofils, des cytochromes extracellulaires ou encore des médiateurs d'électrons liés à la matrice (Busalmen, Esteve-Núñez, Berná & Feliu, 2008; Debabov, 2008; Du *et al.*, 2007; Hernandez & Newman, 2001; Logan *et al.*, 2006; Lovley, 2008; Richter *et al.*, 2009; Schroder, 2007; Torres *et al.*, 2009). La figure 1-3 illustre les trois premiers mécanismes cités. Un même micro-organisme peut éjecter les électrons par plus d'un mécanisme ; de la même façon, un consortium microbien peut utiliser plusieurs systèmes pour transférer ses électrons à l'anode, dépendamment de leur position au sein du biofilm formé (Hernandez & Newman, 2001; Lovley, 2008), ceci étant traité dans la section suivante.

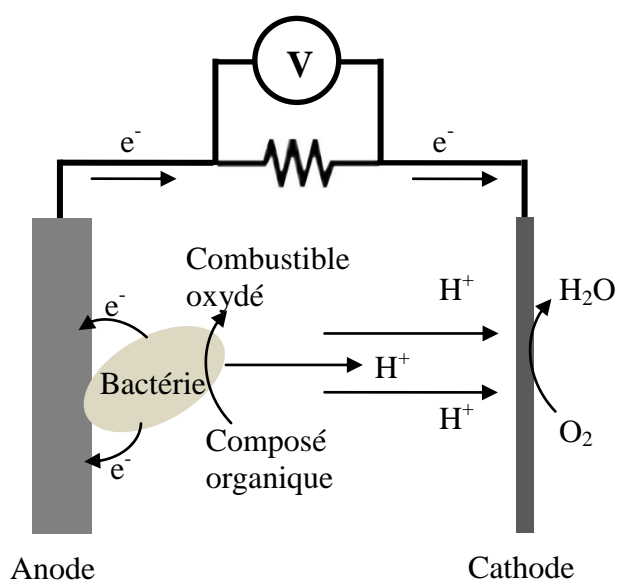


Figure 1-2 : Fonctionnement d'une pile à combustible microbienne

Comme son nom l'indique, le transfert direct d'électrons nécessite un contact direct entre les bactéries et l'électrode puisque les micro-organismes ne sont pas conducteurs en soi. Ainsi, le transfert se fait par le biais des protéines de transport d'électrons intégrées dans la membrane cellulaire bactérienne externe tel les cytochromes (Debabov, 2008; Du *et al.*, 2007; Schroder, 2007). Les micro-organismes relativement rapprochés de la surface de l'anode sans contact direct ont développé une approche alternative pour effectuer un transfert quasi-direct, soit les nanofils. En effet, ces pilis, récemment découverts, seraient connectés aux mêmes cytochromes concernés par le transfert direct des électrons de la bactérie à l'anode (Debabov, 2008; Reguera *et al.*, 2005; Schroder, 2007).

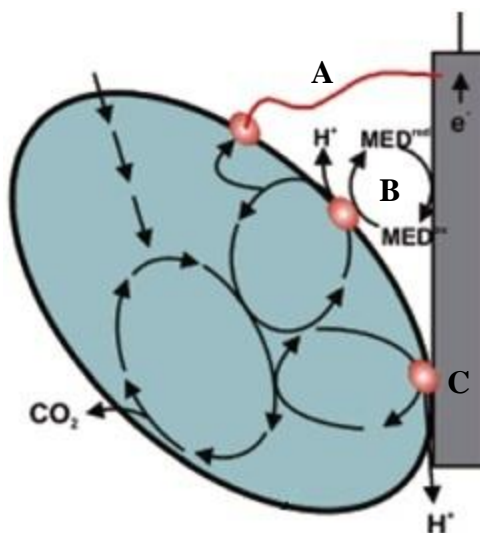


Figure 1-3 : Mécanismes de transfert des électrons à l'anode via : A) nanofils, B) médiateurs externes et C) par transfert direct via protéines intramembranaires (Logan *et al.*, 2006)

Tel que mentionné, le transfert des électrons à l'anode peut aussi s'effectuer en utilisant un médiateur externe pouvant être ajouté dans la solution de la pile à combustible microbienne (thionine, colorants organiques, anthraquinone-2,6-disulfonate (AQDS)) ou produit naturellement par les micro-organismes (phénazine, quinones, flavines, acide humique, hydrogène, formate). Ces médiateurs sont employés par les bactéries comme accepteur final d'électron sous leur forme oxydée en les réduisant, la forme réduite s'oxydant ensuite à l'anode, permettant ainsi de recommencer le cycle. Un médiateur peut être une substance produite à l'intérieur même des cellules et qui peut en sortir pour être oxydée à l'anode, pouvant ensuite dans certains cas entrer de nouveau dans les bactéries (Debabov, 2008; Hernandez & Newman, 2001; Logan *et al.*, 2006; Schroder, 2007; Shukla *et al.*, 2004).

Certaines exigences doivent être remplies afin qu'un tel processus soit efficace, dont entre autres : 1) la correspondance du potentiel du médiateur et des métabolites impliqués, 2) la non-interférence du médiateur avec d'autres processus métaboliques, 3) la stabilité des états d'oxydation du médiateur, et finalement 4) la grande activité du processus d'oxydation du médiateur à l'électrode (Fricke, Harnisch & Schroder, 2008; Schroder, 2007; Shukla *et al.*, 2004).

Les piles à combustible microbiennes basées sur des médiateurs excrétés naturellement par les micro-organismes se sont montrées plus performantes que celles fonctionnant avec un médiateur

ajouté, mais toutefois moins qu'une pile basée exclusivement sur le transfert direct d'électrons (Ieropoulos, Greenman, Melhuish & Hart, 2005), cette conclusion étant basée sur l'efficacité coulombique (taux de transformation du substrat en électricité). Il est toutefois important de noter que l'addition d'un médiateur doit se répéter périodiquement afin de conserver la capacité d'échange d'électrons entre les micro-organismes et l'électrode (Schroder, 2007), alors que la génération de médiateurs par les bactéries est naturellement augmentée par la présence de l'anode chargée, ces médiateurs pouvant être utilisés par d'autres bactéries que celles les ayant produits (Hernandez & Newman, 2001; Rabaey, Boon, Hofte & Verstraete, 2005a).

1.2 Inoculum, micro-organismes électricigènes et substrats

Les piles à combustible microbiennes peuvent être inoculées en un premier temps à partir de sources qui contiennent un très grand nombre d'espèces de micro-organismes différents (consortium bactérien). Une seconde option, moins adéquate pour les applications pratiques, consiste à utiliser une souche bactérienne pure ayant été cultivée en laboratoire afin qu'un biofilm de cette unique espèce croisse à la surface de l'anode. Dans les deux cas, une multitude de composés organiques peuvent être retirés d'eaux usées issues de sources variées.

1.2.1 Inoculum à population mixte

Un inoculum à population mixte peut être prélevé dans certains environnements naturels tels les sédiments d'océan, de mer, de bassin ou de rivière (He, Shao & Angenent, 2007; Lowy, Tender, Zeikus, Park & Lovley, 2006; Reimers *et al.*, 2006; Zhang, Xu, Diao & Shuang, 2006), ou encore les boues anaérobies (Rabaey, Lissens, Siciliano & Verstraete, 2003) et les eaux usées domestiques (Fan, Hu & Liu, 2007) ou industrielles (Rabaey, Boon, Siciliano, Verhaege & Verstraete, 2004). Il est possible aussi d'inoculer une pile microbienne avec différentes sources (boues aérobies, anaérobies et de milieux humides), conduisant à de meilleures performances de la pile (Sun, Hu, Bi & Cao, 2009). Ces microflore effectuent souvent le transfert des électrons à l'anode soit par contact direct ou encore en utilisant un médiateur naturel produit par des espèces autres que celles étant électricigènes, tel qu'illustré à la figure 1-4.

Lorsque des boues anaérobies ou des eaux usées sont utilisées pour l'inoculation des réacteurs, il est possible d'observer la lutte entre les différentes espèces microbiennes, soit pour la consommation du substrat qui est essentiel à leur survie, soit au niveau de l'espace de croissance

et d'attachement, les micro-organismes d'intérêt dans les piles microbiennes pouvant voir l'anode être colonisée par d'autres espèces n'y effectuant pas de transfert d'électrons. De la sorte, les micro-organismes méthanogènes et acidogènes, respectivement générateurs de méthane et d'acides gras volatiles (AGV), peuvent dévier une partie du substrat servant préférentiellement à générer de l'électricité. De plus, la présence des AGV en excès a tendance à diminuer le pH au sein du biofilm, diminuant l'activité des micro-organismes électricigènes. Cette déviation du substrat peut donc réduire la productivité de la pile microbienne sous deux aspects. Il a toutefois été montré que les quantités de CH_4 et d'AGV augmentent avec la charge organique et qu'un contrôle de celle-ci permet de restreindre leur production. D'autre part, les micro-organismes électricigènes utilisent les AGV comme substrat, une forte production d'électricité étant favorable à l'enlèvement de ces composés dans le biofilm diminuant les risques de limitation par leur accumulation dans la pile (Freguia, Rabaey & Keller, 2007a).

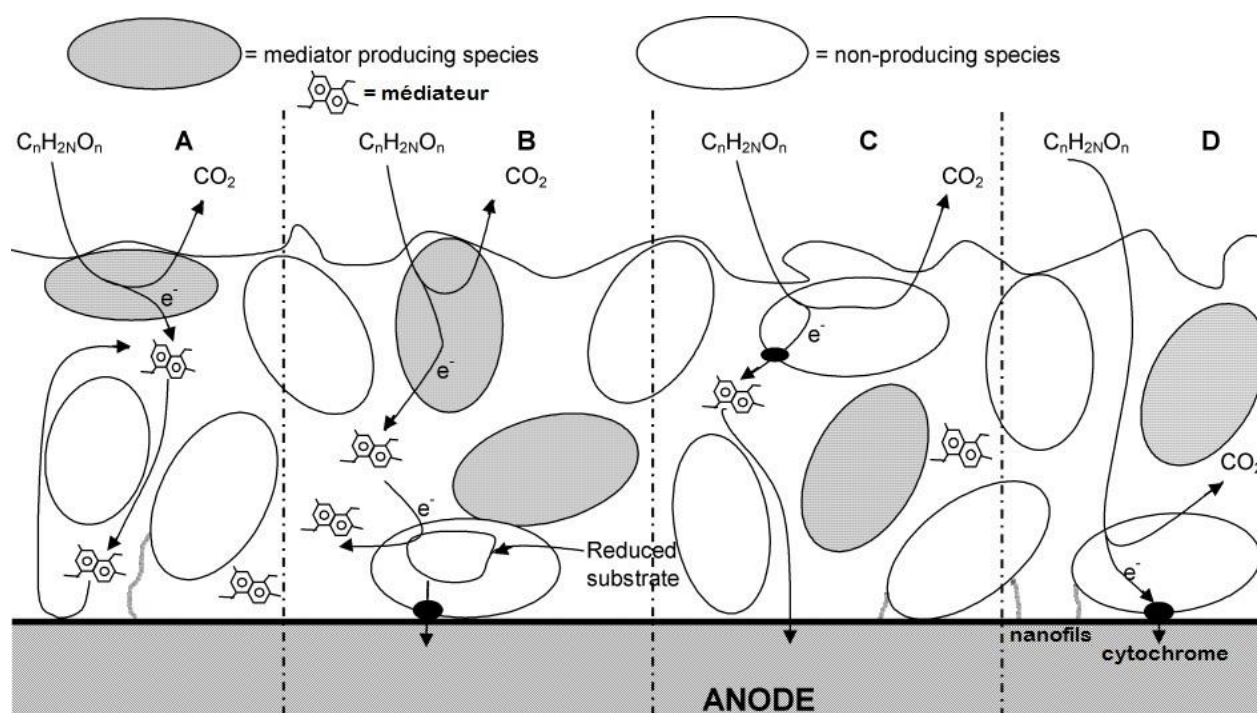


Figure 1-4 : Mécanismes de transfert d'électrons au sein d'un biofilm issu d'un consortium : A) via un médiateur produit par la bactérie; B) via cytochrome où la bactérie électricigène oxyde un sous-produit généré par une autre espèce; C) via médiateur produit par une autre espèce; et D) via contact direct d'un cytochrome ou de nanofils (modifiée d'après Rabaey et al., 2005a)

D'après l'analyse des gènes, on observe que parmi les populations microbiennes mixtes, certains micro-organismes se développent en plus grand nombre lorsque soumis aux conditions présentes dans une pile à combustible microbienne. Ainsi, des espèces telles *Shewanella affinis*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Pseudoalteromonas sp.*, *Brevundimonas aurantiaca* et *Geobacter sp.* semblent faire partie des bactéries électrigènes dominantes, dépendamment de la source et des composés organiques utilisés comme substrat (Jung & Regan, 2007; Lee, Parameswaran, Kato-Marcus, Torres & Rittmann, 2008; Liu, Harnisch, Fricke, Sietmann & Schröder, 2008; Logan, Murano, Scott, Gray & Head, 2005). De plus, le fait de changer de type de substrat peut conduire à une modification des espèces électrigènes dominantes peuplant l'anode, quelques jours étant parfois nécessaires à l'adaptation des microorganismes pour générer à nouveau un courant élevé et stable (Zhang, Min, Huang & Angelidaki, 2011).

Il peut être utile d'enrichir un inoculum afin d'obtenir une plus grande quantité de micro-organismes électrigènes, et ce, soit en transférant le biofilm obtenu sur l'anode d'une pile à combustible vers une autre (Kim, Min & Logan, 2005), en mettant en contact l'électrode vierge avec une électrode inoculée, toutes deux étant à un potentiel imposé (Liu *et al.*, 2008) ou encore en inoculant la nouvelle pile avec l'effluent d'une pile microbienne déjà fonctionnelle (Aelterman, Freguia, Keller, Verstraete & Rabaey, 2008a). L'ajout d'inhibiteur de méthanogénèse permet aussi d'empêcher la formation de méthane, augmentant l'efficacité de la pile par l'utilisation du substrat presque exclusivement par les bactéries anodophiles (Kim *et al.*, 2005), cette technique ne consistant pas en une approche utile car le traitement doit être répété périodiquement et peut s'avérer qu'en partie efficace.

1.2.2 Souches pures de micro-organismes électrigènes

Tel que mentionné précédemment, les piles microbiennes peuvent utiliser comme inoculum autant une souche pure qu'un consortium bactérien anaérobie. Dans le premier cas, on retrouve des espèces telles que *Shewanella putrefaciens*, *Shewanella oneidensis*, *Geobacter sulfurreducens*, *Aeromonas hydrophila*, *Rhodospirillum rubrum*, *Klebsiella pneumoniae* et *Clostridium sp.*, micro-organismes ayant démontré leur capacité à effectuer un transfert direct au Fe(III) pour le réduire en Fe(II) via la présence de cytochromes intramembranaires (Beliaev *et al.*, 2005; Chaudhuri & Lovley, 2003; Kim *et al.*, 1999; Park *et al.*, 2001; Rabaey & Verstraete, 2005; Zhang *et al.*, 2008b). Dans le cas de *Shewanella* et *Geobacter*, il a récemment été proposé

que ces espèces utilisent des nanofils conducteurs pour effectuer le transfert des électrons (Reguera *et al.*, 2005; Schroder, 2007).

La bactérie bien connue *Escherichia coli* a aussi été employée dans les piles à combustible microbiennes, celle-ci nécessitant par contre l'ajout d'un médiateur afin de transférer avec succès ses électrons à l'anode (Ieropoulos *et al.*, 2005; Park & Zeikus, 2003). De la même façon, la levure *Saccharomyces cerevisiae* a aussi été expérimentée comme donneur d'électrons dans une pile microbienne où le bleu de méthylène servait de médiateur (Walker & Walker, 2006). D'autres micro-organismes utilisent aussi des médiateurs comme navettes, soit *Pseudomonas aeruginosa*, *Erwinia dissolvens* et *Desulfuvibrio desulfuricans* (Ieropoulos *et al.*, 2005; Rabaey & Verstraete, 2005; Zhao *et al.*, 2009), illustrant les nombreuses possibilités des espèces bactériennes pouvant générer de l'électricité dans une pile à combustible microbienne.

Une population binaire s'avère parfois nécessaire dans certains cas précis. En effet, lorsqu'un substrat complexe telle la cellulose sert de combustible, une première espèce (*Clostridium cellulolyticum*) doit d'abord dégrader le composé organique complexe en composé plus simple, pour qu'ensuite la seconde souche (*Geobacter sulfurreducens*) prenne la relève et génère des électrons par la digestion du substrat (Ren, Ward & Regan, 2007). Un autre exemple est l'affiliation de bactéries gram positives et négatives, certaines espèces gram positives (*Brevibacillus*) étant capables d'effectuer un transfert d'électrons à une électrode seulement en présence d'autres espèces microbiennes gram négatives (*Pseudomonas* produisant des métabolites de phénazine) (Pham *et al.*, 2008).

Les souches pures microbiennes sont parfois destinées à utiliser un seul ou une gamme très restreinte de substrats. Il a par contre été montré qu'il était possible d'élargir la variété de combustibles digérés par le micro-organisme *Shewanella oneidensis* en effectuant sa croissance en présence d'oxygène, ce qui a augmenté significativement l'expression de protéines clé dans la dégradation de certains substrats (Biffinger, Byrd, Dudley & Ringeisen, 2008). La même technique de croissance de cette espèce a aussi démontré l'augmentation de la génération de puissance, ceci étant dû à l'accroissement de l'activité de la biomasse de même qu'une utilisation plus efficace du substrat (Rosenbaum, Cotta & Angenent, 2010b). Toutefois, la présence d'oxygène peut amener le détournement d'une somme importante d'électrons vers la respiration

aérobie plutôt que la production d'électricité si le substrat est présent en quantité insuffisante pour les espèces électrigènes (Oh, Kim, Joo & Logan, 2009).

1.2.3 Substrats utilisés comme combustibles

Plusieurs substrats ont été utilisés comme combustibles dans les piles microbiennes afin de générer de l'électricité, ceux-ci pouvant inclure des composés organiques complexes ou encore des substances très simples. Leur composition et provenance peuvent de plus être très variées puisque ces dispositifs sont destinés au traitement d'eaux usées diverses.

Du nombre des substrats employés en laboratoire pour simuler différents effluents, on retrouve l'acétate (Lee *et al.*, 2008; Liu, Cheng & Logan, 2005b; Thygesen, Poulsen, Min, Angelidaki & Thomsen, 2009; Zhang *et al.*, 2006), le formate (Ha, Tae & Chang, 2008), le butyrate (Liu *et al.*, 2005b), le glucose (Chaudhuri & Lovley, 2003; Lee *et al.*, 2008; Rabaey *et al.*, 2003; Thygesen *et al.*, 2009), le sucrose (Bennetto *et al.*, 1985), le xylose (Huang & Logan, 2008b; Huang, Zeng & Angelidaki, 2008; Thygesen *et al.*, 2009), la cystéine (Logan *et al.*, 2005), la cellulose (Ren *et al.*, 2007; Rezaei, Richard & Logan, 2008; Rismani-Yazdi *et al.*, 2007), le phénol (Luo, Liu, Zhang & Jin, 2009), les polyalcools (Catal, Xu, Li, Bermek & Liu, 2008b), les sulfites (Zhao *et al.*, 2009) et le CO et le syngaz ($\text{CO} + \text{H}_2$) (Mehta *et al.*, 2010). Une étude exhaustive a quant à elle employé douze différents monosaccharides pour générer de l'électricité à partir des piles microbiennes : glucose, galactose, fructose, fucose, rhamnose, mannose, xylose, arabinose, ribose et les acides galacturonique, glucoronique et gluconique (Catal, Li, Bermek & Liu, 2008a). Dans le cas du formate, seule une petite partie du substrat fut consommée par les micro-organismes électrigènes issus de l'inoculum provenant de boues anaérobies, démontrant ici la difficulté d'obtenir une bonne efficacité coulombique lorsqu'on ne peut contrôler les espèces occupant l'anode (Ha *et al.*, 2008).

Les piles à combustible microbiennes ayant comme future application le traitement des eaux usées, plusieurs eaux de rejets provenant de sources variées ont été testées dans de telles piles afin de prouver leur efficacité à générer l'électricité à partir de tout type de déchets liquides. Ainsi, a été confirmée l'efficacité des eaux usées domestiques (Liu, Ramnarayanan & Logan, 2004; Min & Logan, 2004; Rabaey, Ossieur, Verhaege & Verstraete, 2005c), des eaux de rejets venant de la transformation d'aliments (bière, distillerie, maïs, riz, céréales, amidon, pommes, yogourt) (Behera, Jana, More & Ghangrekar, 2010; Cercado-Quezada, Delia & Bergel, 2010;

Feng, Wang, Logan & Lee, 2008; Logan, 2006; Mohanakrishna, Venkata Mohan & Sarma, 2010; Oh & Logan, 2005; Park *et al.*, 2001; Wang, Feng & Lee, 2008), issues d'usines de recyclage de papier (Huang & Logan, 2008a) et de procédé de transformation des cannes de maïs par explosion de vapeur (Feng, Lee, Wang, Liu & He, 2010a), ou encore de fumiers animaliers (porcs) (Min, Kim, Oh, Regan & Logan, 2005). Dans un cas d'eaux usées issues d'une usine agroalimentaire, le procédé de production d'électricité a été couplé avec la production préalable de biohydrogène lors du processus de fermentation, augmentant significativement la puissance générée par la pile microbienne comparativement à la puissance obtenue avec les effluents non fermentés (Oh & Logan, 2005).

1.3 Opération et configurations des piles à combustible microbiennes

Le design des réacteurs utilisés est un élément important devant être étudié amplement afin de pouvoir obtenir une quantité substantielle d'énergie lors de l'accroissement de la taille des piles microbiennes tout en réduisant les coûts d'installation et d'opération. Plusieurs facteurs sont ainsi d'une importance accrue pour maximiser l'efficacité d'une pile à combustible microbienne.

1.3.1 Modes et conditions d'opération des piles

Les conditions et modes opératoires auxquels les piles à combustible microbiennes fonctionnent influencent le courant généré et l'efficacité du traitement des eaux usées. Les premiers essais d'opération de piles à combustible microbiennes étaient principalement effectués en cuvette, soit par l'insertion de l'affluent et son remplacement complet après consommation de presque toute la charge organique (comme dans une pile commune, appelée à tort en français une *batterie*). La faisabilité et l'efficacité du traitement des eaux dans un système en continu sont maintenant démontrées (Min & Logan, 2004) et plusieurs études sont faites avec un chargement en continu, comme dans le cas de piles à combustible conventionnelles, facilitant le contrôle et le maintien de conditions stables dans les réacteurs.

Lorsque la pile microbienne est opérée en flux continu, une boucle de recirculation est souvent incorporée afin d'effectuer un brassage des espèces en solution (substrats, nutriments, cations et protons entre autres). Le taux de recirculation peut influencer les performances de la pile en diminuant sa résistance interne, principalement au niveau de la résistance ohmique et de la résistance liée à la diffusion des espèces en solution (You *et al.*, 2007). Les différentes résistances

de la pile microbienne sont traitées subséquemment dans la section « 1.5 Aspects électrochimiques des piles à combustible microbiennes ».

Le temps de rétention hydraulique, soit la durée où l'électrolyte demeure dans le réacteur, doit être optimisé puisqu'un temps de rétention court permet une plus grande génération de courant mais une moins bonne efficacité au niveau de l'enlèvement de la charge organique. Dans la même lignée, le taux de chargement du substrat est important puisqu'un affluent possédant une trop grande concentration de matières organiques produira un meilleur gain en courant, mais seulement jusqu'à un certain point car une trop grande présence de composés organiques cause une diminution du courant généré (Moon, Chang, Jang & Kim, 2005).

D'autres conditions d'opération, soit la température, le pH et la conductivité de l'électrolyte, sont aussi des facteurs importants affectant la performance des piles à combustible microbiennes. Ainsi, à une température de 30°C, la puissance est presque le double de ce qui est observé à 22°C. De plus, une activité électrique minimale a été remarquée à une température de 15°C, ces observations suivant la loi d'Arrhénius (Liu, Cheng & Logan, 2005a; Min, Román & Angelidaki, 2008). Un pH neutre indique une plus faible quantité de protons qu'en pH acide, d'où la nécessité d'un brassage de l'électrolyte pour permettre d'amener les protons à la cathode. D'autre part, l'acidité et la basicité peuvent diminuer considérablement le métabolisme microbien, affectant certaines espèces plus que d'autres, ou à l'extrême causer la mort des micro-organismes (Gil *et al.*, 2003; He, Huang, Manohar & Mansfeld, 2008; Jadhav & Ghangrekar, 2009; Veer Raghavulu, Venkata Mohan, Venkateswar, Mohanakrishna & Sarma, 2009). Une bonne conductivité permet quant à elle le transport plus aisé des espèces électroactives devant rejoindre les micro-organismes et catalyseurs cathodiques, respectivement à l'anode et la cathode, ce qui augmente significativement la puissance générée par la pile microbienne par la diminution de sa résistance ohmique. Certaines espèces microbiennes ne peuvent toutefois supporter une conductivité trop élevée (Huang, Sun & Zhang, 2010; Liu *et al.*, 2005a; Nam, Kim, Lim, Shin & Logan, 2010).

1.3.2 Configurations des piles

Les réacteurs formant les piles microbiennes présentent différentes configurations, tant au niveau de la forme même du réacteur, du nombre de chambres qu'il comporte (une ou deux), de l'utilisation ou non de la membrane à échange de protons, de cations ou autres matières ayant la même fonction et finalement des matériaux d'électrodes utilisés et la distance les séparant.

Il est possible de réunir plusieurs piles pour former un empilement avec quelques modifications des systèmes, cette option permettant d'accroître le voltage des systèmes et donc la puissance générée. Toutefois, dépendamment de la façon dont les piles sont connectées, différents problèmes peuvent survenir. Ainsi, des piles branchées en série peuvent voir le courant d'un des assemblages anode/cathode s'inverser, diminuant substantiellement la puissance (Aelterman, Rabaey, Pham, Boon & Verstraete, 2006; Oh & Logan, 2007). D'un autre côté, le branchement en parallèle, quoiqu'il génère un très fort courant, entraîne aussi des pertes plus grandes au sein des matériaux (Dekker, Heijne, Saakes, Hamelers & Buisman, 2009). Il est aussi possible d'effectuer un branchement mixte série/parallèle, permettant ainsi l'augmentation à la fois du courant et du voltage de la pile et démontrant une efficacité supérieure (Ieropoulos, Greenman & Melhuish, 2008). Les empilements de piles microbiennes sont une voie explorée pour avoir des piles de volumes importants permettant le traitement d'une plus grande quantité d'eaux usées en parallèle avec une puissance plus élevée.

La figure 1-5 présente divers designs de piles à combustible microbiennes, comportant une ou deux chambres. Dans le cas des piles à deux compartiments, la configuration la plus simple consiste à connecter deux bouteilles de verre (fig.1-5A) (Zhang *et al.*, 2006). D'autres designs employés en laboratoire consistent entre autres en un réacteur tubulaire où la cathode en forme de U se situe à l'intérieur du réacteur (fig.1-5B) (He, Wagner, Minteer & Angenent, 2006) ou encore un réacteur rectangulaire à flux ascendant (fig.1-5C) (Tartakovsky & Guiot, 2006). Parmi les piles à une chambre, on note un réacteur tubulaire où la cathode se situe à l'extérieur (fig.1-5D) (Rabaey, Clauwaert, Aelterman & Verstraete, 2005b) et un réacteur cylindrique dont les électrodes sont situées à chacune des extrémités (fig.1-5E) (Liu & Logan, 2004). Il est à noter que plusieurs autres modèles de réacteurs ont été construits et évalués, mais l'énumération de tous ces types serait trop exhaustive et n'est pas essentielle pour le présent travail de recherche. Un réacteur à deux chambres est utilisé lorsque la réaction cathodique nécessite une solution liquide (ex. : ferricyanure, peroxyde d'hydrogène). Cette option a comme problématique le remplacement constant du catholyte ou son oxygénation, de même que la possibilité d'une fuite dans le compartiment anodique au travers de la membrane polymérique séparant les deux chambres (Tartakovsky & Guiot, 2006). Avec le développement de la cathode à diffusion gazeuse qui permet à l'air ambiant d'atteindre la surface des catalyseurs, la construction de piles microbiennes à une chambre s'est répandue, réduisant les coûts de construction et d'opération

tout en générant un courant semblable, voire plus élevé (Liu & Logan, 2004; Park & Zeikus, 2003).

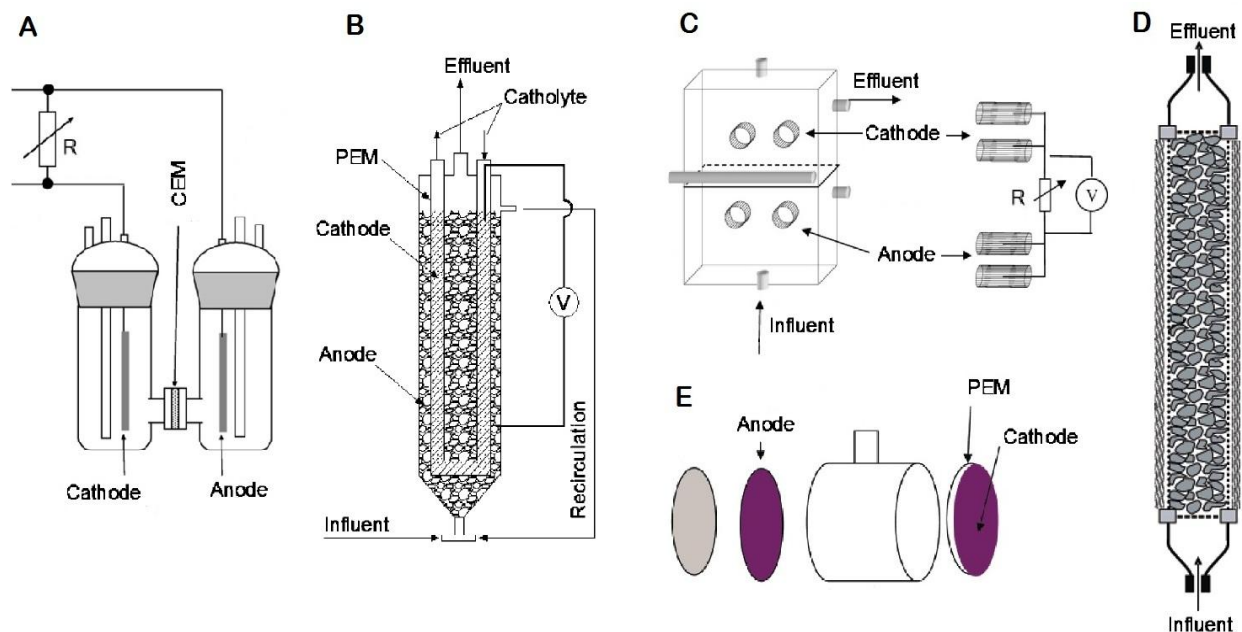


Figure 1-5 : Divers designs de piles à combustible microbiennes (adapté de He *et al.*, 2006; Liu & Logan, 2004, Rabaey *et al.*, 2005b; Tartakovsky & Guiot, 2006; Zhang *et al.*, 2006)

Dans les piles à un compartiment, il ne s'avère désormais plus nécessaire d'employer une membrane polymérique, celle-ci augmentant significativement la résistance interne du système. Par contre, une telle disposition du réacteur peut voir son efficacité diminuée par la présence d'oxygène dans l'anolyte, déviant une quantité substantielle d'électrons (Liu & Logan, 2004). L'application de couches successives de polytétrafluoroéthylène (PTFE) sur la surface en contact avec l'air peut contrer ce désavantage (Cheng, Liu & Logan, 2006a). Plusieurs alternatives ont été testées pour remplacer les membranes polymériques (ex. : membrane de nylon ou de cellulose) (Biffinger, Ray, Little & Ringeisen, 2007), mais ce sont les chiffons J^{MD} qui ont démontré les meilleures performances des piles lors de leur utilisation, permettant de sandwicher les deux électrodes et maximisant ainsi la génération de la puissance à un niveau encore inégalé (plus de 1000 W m^{-3}) (Fan *et al.*, 2007).

Il apparaît donc évident que la distance entre les électrodes est un facteur décisif qui doit être minimisé afin de réduire la résistance du transport des espèces actives dans l'électrolyte,

maximisant ainsi la puissance générée. Il faut toutefois noter qu'une distance optimale de 2 cm offre des performances supérieures dans le cas de piles microbiennes opérées en cuvette alors qu'une séparation de 1cm ou moins améliore significativement les performances des piles en flux continu (Cheng, Liu & Logan, 2006b; Fan *et al.*, 2007).

Finalement, il est important de mentionner que les matériaux utilisés tant à l'anode qu'à la cathode vont déterminer le taux de réaction siégeant aux dites électrodes, ceci étant l'élément clé du fonctionnement d'une pile à combustible microbienne. Ainsi, la quantité d'électrons transmis à l'anode étant proportionnelle aux nombres de micro-organismes y étant attachés, une anode possédant une très grande surface générera un courant d'une plus grande intensité (Chaudhuri & Lovley, 2003). L'activité catalytique des matériaux utilisés à la cathode est le facteur le plus limitant à cette électrode, nécessitant de trouver des catalyseurs peu coûteux mais très actifs pour remplacer le platine (Rismani-Yazdi, Carver, Christy & Tuovinen, 2008). Puisque leur importance dans le présent travail de recherche est de taille, elle nécessite un approfondissement accru du sujet. En conséquence, les matériaux d'électrodes sont traités plus en détails dans la section qui suit.

1.4 Matériaux d'électrodes employés dans les piles microbiennes

Mentionné ci-haut, les matériaux utilisés tant à l'anode qu'à la cathode sont d'une grande importance, étant le siège des réactions anodiques et cathodiques d'oxydation et de réduction respectivement. Cette section décrit donc en détails les propriétés que les matériaux d'électrodes doivent posséder ainsi que les performances des matériaux ayant été employés jusqu'à ce jour dans les études sur les piles à combustible microbiennes.

1.4.1 Matériaux d'anodes

Les matériaux utilisés à l'anode sont importants pour maximiser différentes caractéristiques telles l'adhésion cellulaire et le transfert d'électrons. Ainsi, ces matériaux se doivent d'être conducteurs, biocompatibles et chimiquement stables dans la solution anodique. Lorsque les anodes consistent en matériaux métalliques, ces métaux doivent être résistants à la corrosion et surtout non toxiques.

Le tableau 1.1 présente les différents matériaux testés par diverses études effectuées sur les piles à combustible microbiennes. Néanmoins, les propriétés générales et les performances de ces

matériaux étant dépendantes entre autres de la composition de l'électrolyte, du design du réacteur, de son mode opératoire ainsi que des matériaux eux-mêmes et des micro-organismes électricigènes, seules les références y sont citées car les comparaisons ne sont possibles, ceci étant causé par une trop grande disparité des conditions expérimentales entre chaque étude.

Le matériau le plus employé est le carbone, que ce soit sous forme de plaque compacte, de tige, de granules, de matériel fibreux (feutre, tissu, papier, etc.) ou le carbone vitreux (réticulé ou non). Les matériaux fibreux sont plus adoptés car ceux-ci offrent une plus grande surface d'attachement pour les micro-organismes, augmentant substantiellement la puissance générée par la pile microbienne (Chaudhuri & Lovley, 2003; Logan *et al.*, 2006). La figure 1-6 montre deux exemples de fibres de carbone sous des formes couramment utilisées dans les piles microbiennes. L'utilisation de nanotubes et de nanofils de carbone, tout en augmentant considérablement la surface de l'anode, permet aussi l'accroissement de la puissance générée par la pile microbienne (Sun, Zhao, Yang, Song & Xue, 2010; Tsai, Wu, Lee & Shih, 2009; Zhao *et al.*, 2010), quoique leur coût limite leur application dans des systèmes de traitement d'eaux usées.

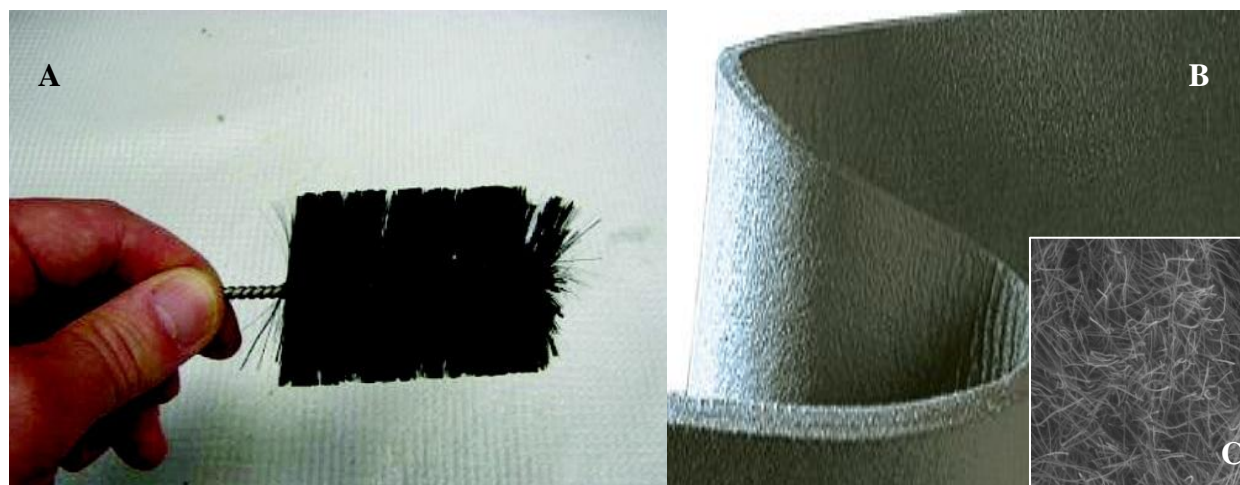


Figure 1-6 : Anodes formées de fibres de carbone sous forme de brosse (A) (Logan, Cheng, Watson & Estadt, 2007) et de feutre (B) (SGL Group, 2010) (C : grossissement de 150X)

Différents matériaux ou dépôts ont été évalués comme anode, et ce, dans le but d'augmenter le transfert d'électrons entre les micro-organismes et l'électrode. Or, malgré la quête au remplacement du platine comme catalyseur dans toutes piles à combustible, une équipe a testé ce matériau comme catalyseur anodique pour augmenter le taux de transfert d'électrons entre les bactéries et le papier de carbone formant l'anode (Park, Sanchez, Cho & Yun, 2008). Ce dépôt a

augmenté significativement le courant produit. Toutefois, le choix du platine comme catalyseur demeure questionnable de même que la réaction électrochimique générant la majeure partie des électrons, ceux-ci pouvant provenir en partie de l'oxydation de l'eau plutôt que de la dégradation microbienne du substrat. Si les électrons ne sont plus générés par les micro-organismes, on ne peut plus considérer être en présence d'une pile à combustible microbienne.

De la même façon, le titane a aussi été testé sous forme de plaque, avec et sans dépôt de platine (ter Heijne, Hamelers, Saakes & Buisman, 2008). Le titane a démontré son inaptitude à être utilisé comme anode dans une pile microbienne. De plus, le choix des matériaux est encore une fois problématique puisque le titane est aussi dispendieux pour de telles applications, tout comme le platine, et la présence de ce dernier met en doute la réaction d'oxydation siégeant à l'anode tel que mentionné précédemment.

Un dépôt de Fe_2O_3 a été effectué afin de favoriser la croissance des micro-organismes électricigènes par rapport aux micro-organismes méthanogènes, augmentant ainsi la puissance générée par la pile microbienne. Ce dépôt a effectivement conduit à une production supérieure d'électricité (de 22 à 30 W m^{-3}), mais cette alternative n'a pas accru la puissance autant que l'enrichissement de la flore microbienne électricigène (Kim *et al.*, 2005).

Du rouge neutre a été immobilisé sur du graphite, augmentant ainsi la production d'énergie par la pile microbienne tout en diminuant les coûts en évitant d'ajouter régulièrement ce médiateur dans l'anolyte (Park & Zeikus, 2003). Par contre, il n'est pas révélé si, avec une longue période d'opération, le médiateur se retrouve en solution et est évacué, tel qu'on peut le présager.

Le même groupe a procédé à la fabrication d'électrodes de graphite contenant du Mn^{4+} , Mn^{2+} et Ni^{2+} , Fe_3O_4 , Fe_3O_4 et Ni^{2+} , de même qu'en immobilisant sur la surface des médiateurs tels le naphthoquinone (NQ) et l'AQDS (Lowy *et al.*, 2006; Park & Zeikus, 2003). Chacun de ces traitements a montré avoir une plus grande activité anodique pour le transfert des électrons, principalement pour l'électrode de Mn^{2+} et Ni^{2+} . Les électrodes modifiées possédaient un potentiel différent du carbone non modifié, suggérant des réactions électrochimiques différentes siégeant à l'anode.

Tableau 1.1 : Matériaux testés à l'anode dans les piles à combustible microbiennes

Anode	État/Composition	Référence
Carbone ou graphite	Brosse formée de fibres	(Logan <i>et al.</i> , 2007)
	Brosse traitée à l'acide	(Feng, Yang, Wang & Logan, 2010b)
	Feuille mince	(Liu <i>et al.</i> , 2010)
	Feutre	(Aelterman, Versichele, Marzorati, Boon & Verstraete, 2008b)
	Feutre traité à l'acide	(Zhu <i>et al.</i> , 2010)
	Granules	(Aelterman <i>et al.</i> , 2008b)
	Laine	(Aelterman <i>et al.</i> , 2008b)
	Nanotubes/Nanofils	(Sun <i>et al.</i> , 2010; Tsai <i>et al.</i> , 2009; Zhao <i>et al.</i> , 2010)
	Papier	(Liu <i>et al.</i> , 2005b; Liu <i>et al.</i> , 2010)
	Plaque	(ter Heijne <i>et al.</i> , 2008)
	Tige	(Liu <i>et al.</i> , 2010)
	Tissu	(Morris, Jin, Wang, Zhu & Urynowicz, 2007)
	Tissu traité au NH ₃	(Cheng & Logan, 2007b)
	Vitrifié	(Aldrovandi <i>et al.</i> , 2009; He, Minteer & Angenent, 2005)
	Voile	(Liu <i>et al.</i> , 2010)
Électrodes ou dépôts métalliques	Fe ₂ O ₃	(Kim <i>et al.</i> , 2005)
	Fe ₃ O ₄	(Lowy <i>et al.</i> , 2006)
	Fe ₃ O ₄ + Ni ²⁺	(Lowy <i>et al.</i> , 2006)
	Mn ⁴⁺	(Park & Zeikus, 2003)
	Ni ²⁺ + Mn ²⁺	(Lowy <i>et al.</i> , 2006)
	Pt	(Park <i>et al.</i> , 2008; ter Heijne <i>et al.</i> , 2008)
	Ti	(ter Heijne <i>et al.</i> , 2008)
Médiateurs	AQDS	(Lowy <i>et al.</i> , 2006)
	NQ	(Lowy <i>et al.</i> , 2006)
	Rouge neutre	(Park & Zeikus, 2003)

Différents traitements de surface peuvent aussi être appliqués pour augmenter les performances des matériaux d'anode. Un simple traitement de la surface d'électrodes avec du NH_3 gazeux a montré une amélioration du temps d'acclimatation nécessaire à la production d'électricité par une pile microbienne due à l'augmentation de la charge de la surface, de même qu'un accroissement de la puissance générée causé par la présence de groupes fonctionnels à la surface de l'électrode traitée (Cheng & Logan, 2007b). Quant à eux, les traitements à l'acide sulfurique, à l'acide nitrique et à l'acide nitrique suivie d'éthylènediamine permettent aussi d'accroître la puissance générée en modifiant les groupes fonctionnels de surface, soit respectivement par l'enlèvement de groupements C-O tout en laissant place à un ratio azote/carbone plus élevé, par l'augmentation du ratio N/C, et finalement par l'accroissement du ratio oxygène/carbone et l'adhésion de groupes azotés (Feng *et al.*, 2010b; Zhu *et al.*, 2010).

Ainsi, la meilleure option pour l'anode est d'utiliser un matériau tel le carbone sous une forme possédant une très grande surface (feutre, brosse) tout en limitant le traitement de surface effectué pour minimiser leurs coûts de fabrication. Les traitements à l'acide ou au NH_3 gazeux semblent réalisables puisqu'ils sont abordables et modifient positivement les groupements fonctionnels à la surface. L'ajout de médiateurs ou autres dépôts métalliques peuvent conduire à un ratio puissance/coût trop bas par rapport aux simples traitements de surface.

1.4.2 Matériaux de cathodes

Du côté de la cathode, les options sont aussi très nombreuses, d'autant plus que les matériaux choisis affectent significativement la performance des piles à combustible microbiennes. Afin de remplacer le platine et le ferricyanide couramment employés, plusieurs perspectives ont été envisagées, concentrées dans deux domaines précis : 1) le développement de nouveaux matériaux catalyseurs pouvant effectuer la réduction de l'oxygène (cathodes abiotiques), et 2) le développement de biocathodes, soit d'une cathode dont le catalyseur consiste en micro-organismes. Dans le deuxième cas de figure, différents mécanismes et micro-organismes ont été étudiés, ouvrant la porte à toute une panoplie de solutions possibles qui sont fonction des eaux traitées (donc des accepteurs d'électrons) et des métabolismes bactériens. Des catalyseurs enzymatiques peuvent être envisagés, mais ceux-ci doivent d'abord être isolés et ont tendance à nécessiter un remplacement périodique puisqu'ils se désactivent et se dénaturent, ce qui n'est pas envisageable dans le cas de traitement d'eaux usées (He & Angenent, 2006; Schroder, 2007).

1.4.2.1 Cathodes abiotiques

Dans le cas de cathodes abiotiques en présence d'une pile à deux compartiments, la réduction du ferricyanide est communément utilisée, où $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ est réduit en $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ (He & Angenent, 2006). Son remplacement par du peroxyde d'hydrogène (Tartakovsky & Guiot, 2006), du permanganate (MnO_4^-) avec déposition de MnO_2 sur la cathode de carbone (You, Zhao, Zhang, Jiang & Zhao, 2006), une solution de persulfate de potassium ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) (Li *et al.*, 2009), un catholyte de chélateurs du fer (Aelterman, Versichele, Genettello, Verbeken & Verstraete, 2009), des colorants azoïques (Liu, Li, Feng & Li, 2009), une eau usée contaminée au Cr^{6+} (Li, Zhang & Lei, 2008; Wang, Huang & Zhang, 2008) ou une solution de Cu^{2+} avec la déposition du cuivre sur la cathode de carbone (Wang, Lim, Lu, Fan & Choi, 2010) a été envisagé et évalué. Néanmoins, tel que discuté précédemment, cette configuration augmente substantiellement les coûts du procédé puisque les catholytes doivent constamment être remplacés ou oxygénés. De plus, l'oxygène possédant une faible limite de solubilité dans l'eau, la réactivité avec la phase gazeuse, soit l'oxygène présent dans l'air ambiant, est favorisée (Kim, Chang & Gadd, 2007). Toutefois, certains catholytes sont en soi des eaux contaminées, cette configuration peut donc être requise dans certaines applications très spécifiques.

Dans une pile à une chambre, le catalyseur principalement utilisé jusqu'à maintenant pour effectuer la réduction de l'oxygène dans l'air est le platine, catalyseur possédant une excellente réactivité. Toutefois, on cherche à éviter sa présence dans les piles à combustible pour diverses raisons. D'abord, l'accroissement de sa rareté due à sa disponibilité limitée comme ressource naturelle et sa popularité grandissante dans de nombreux domaines rend son coût très élevé, et celui-ci va en augmentant continuellement. De plus, l'activité catalytique du platine est facilement diminuée due à sa contamination par les multiples composés présents au sein des eaux usées. En effet, la réaction cathodique nécessite la présence de protons, mais il s'avère qu'ils ne sont pas les seuls cations présents en solution (entre autres K^+ , Ca^{2+} , Na^+), ceux-ci pouvant occasionner des réactions adverses diminuant le potentiel de la cathode et par le fait même la puissance de la pile microbienne (Clauwaert *et al.*, 2008; Harnisch, Wirth & Schröder, 2009; Rismani-Yazdi *et al.*, 2008; Tran *et al.*, 2010; Zhao *et al.*, 2006). Ces facteurs limitent son utilisation et le rendent inapte à son application pour le traitement d'eaux de rejets.

La réduction de l'oxygène sur les électrodes de carbone/graphite pur étant très lente, différents mécanismes, catalyseurs et traitements ont été employés et étudiés. Le tableau 1.2 présente les divers matériaux étudiés comme cathodes de piles à combustible microbiennes dans le but de remplacer le platine; par contre, puisque les mesures de performances ne sont pas toujours présentes ou évaluées de façon et dans des conditions comparables, encore une fois seules les références y sont indiquées. Toutefois, tous les matériaux évalués ont montré de meilleures performances que le carbone/graphite pur et non traité. Malgré que la réduction de l'oxygène s'effectue plus souvent dans des piles à une chambre, deux compartiments sont parfois utilisés dans le but d'isoler toute contribution parasitique de l'anolyte ou des micro-organismes.

Une première option envisagée a été de diminuer la quantité de platine utilisé en testant certains alliages tel le Pt:Ru (ratio molaire 1:1) (Logan *et al.*, 2005), mais le platine demeure toujours présent. D'autres métaux tels le fer et le cobalt se sont montrés des matériaux de remplacement appropriés comme médiateur entre les électrons arrivant à la cathode et l'oxygène présent puisque leur réactivité est relativement élevée entre leurs différents états d'oxydation (He & Angenent, 2006; Lefebvre *et al.*, 2008), d'autant plus que ces métaux sont beaucoup moins coûteux que les catalyseurs employés couramment dans les piles à combustible. Leur activité demeure toutefois relativement faible.

Dans le cas du fer, les cathodes ont été imprégnées de composés comportant le fer soit sous sa forme Fe(III) (sulfate ferrique) où celui-ci est réduit à l'état Fe(II) par les électrons générés à l'anode pour ensuite être réoxydés en Fe(III) par l'oxygène, ou encore sous l'état Fe(II) sous forme d'acétate de fer (FeAc) réalisant la réduction de l'oxygène. Ces types de cathodes ont montré une amélioration de la vitesse de la réaction cathodique lorsque comparée au carbone/graphite sans traitement ou catalyseur (Park & Zeikus, 2003).

Le manganèse a été évalué sous diverses formes comme matériaux de cathodes pour les piles microbiennes. Pour le remplacement du platine comme réducteur d'oxygène, le MnO_2 a été testé, démontrant des performances très intéressantes au niveau de l'activité catalytique et de la puissance générée par les piles (Roche, Katuri & Scott, 2010; Zhang *et al.*, 2009b).

Un groupe de recherche a plutôt essayé le dioxyde de plomb (PbO_2) comme catalyseur étant donné son très faible coût, ses performances au niveau de la réaction de réduction de l'oxygène étant supérieures à celles du platine (Morris *et al.*, 2007). Par contre, ce catalyseur doit être

absolument utilisé dans un réacteur à deux compartiments séparés par une membrane de polymère car le plomb est un agent très toxique pour les organismes vivants, y compris les micro-organismes, d'autant plus qu'il est déposé en très grande quantité sur la cathode (20 mg cm^{-2}).

Le rutile (TiO_2), matériau généralement utilisé dans les piles solaires, a été évalué comme cathode dans une pile à combustible microbienne. Ce dernier a démontré une génération de puissance légèrement inférieure à celle produite lors de l'utilisation du platine mais une densité de courant plus élevée (Lu *et al.*, 2009). Toutefois, la réaction de réduction de l'oxygène s'effectue plus rapidement lorsqu'elle est photocatalysée, cette cathode doit donc être illuminée afin de démontrer une bonne activité cathodique.

Le carbone sous diverses formes et ayant subi différents traitements a été évalué comme matériau de cathode (Deng, Li, Zuo, Ling & Logan, 2010; Duteanu, Erable, Senthil Kumar, Ghangrekar & Scott, 2010; Erable *et al.*, 2009; Moon, Chang & Kim, 2006; Park & Zeikus, 2003; Tran *et al.*, 2010; Zhang, Cheng, Pant, Bogaert & Logan, 2009a). Une plus grande surface active de même que certains traitements de surface ont su améliorer substantiellement l'activité catalytique du carbone, permettant de l'envisager comme alternative au platine.

Différents catalyseurs de phtalocyanine, soit de fer (FePc), de cobalt (CoPc), de manganèse (MnPc) et de fer-cuivre (FeCuPc) ont aussi été testés comme catalyseurs, leurs performances étant plutôt ordinaires sauf dans le cas du FePc, celui-ci se rapprochant beaucoup des électrodes faites en laboratoire comportant du platine comme catalyseur (HaoYu, Cheng, Scott & Logan, 2007), les électrodes faites en laboratoire démontrant une meilleure activité que les électrodes commerciales. Cette étude a aussi évalué divers catalyseurs de tétraméthoxyphénylporphyrine (TMPP), soit de cobalt (CoTMPP) et de fer-cobalt (FeCoTMPP). Les performances du premier se sont avérées très similaires à celles du platine fait en laboratoire, le second ayant plutôt été écarté. Par contre, le CoTMPP a montré une légère diminution de la réactivité comparativement au FePc. Une autre étude a synthétisé le ClFeTMPP dont les performances se sont montrées très intéressantes mais toujours inférieures au FePc (Birry *et al.*, 2010).

Tableau 1.2 : Matériaux de cathodes abiotiques testés dans les piles à combustible microbiennes

Cathode	Matériau/État	Référence
Platine	Pur	(Logan <i>et al.</i> , 2005)
	Pt-Ru	(Logan <i>et al.</i> , 2005)

Tableau 1.2 : Matériaux de cathodes abiotiques testés dans les piles à combustible microbiennes (suite et fin)

Cathode	Matériau/État	Référence
Fer	Fe(III)/Fe(II)	(Park & Zeikus, 2003)
	FeAc	(Birry <i>et al.</i> , 2010)
Cobalt	Poudre de Co	(Lefebvre <i>et al.</i> , 2008)
Oxydes de manganèse	MnO ₂	(Roche <i>et al.</i> , 2010; Zhang <i>et al.</i> , 2009b)
Plomb	PbO ₂	(Morris <i>et al.</i> , 2007)
Rutile	TiO ₂	(Lu <i>et al.</i> , 2009)
Carbone/Graphite	Carbone activé	(Zhang <i>et al.</i> , 2009a)
	Feutre	(Moon <i>et al.</i> , 2006)
	Feutre activé	(Deng <i>et al.</i> , 2010)
	Granules	(Tran <i>et al.</i> , 2010)
	Granules activées à l'acide nitrique	(Erable <i>et al.</i> , 2009)
	Laine	(Park & Zeikus, 2003)
	Poudre activée à l'acide nitrique	(Duteanu <i>et al.</i> , 2010)
Phtalocyanine (Pc)	FePc	(Birry <i>et al.</i> , 2010; HaoYu <i>et al.</i> , 2007; Yuan, Zhou & Zhuang, 2010; Zhao <i>et al.</i> , 2005)
	CoPc	(HaoYu <i>et al.</i> , 2007)
	FeCuPc	(HaoYu <i>et al.</i> , 2007)
	MnPc	(HaoYu <i>et al.</i> , 2007)
Tétraméthoxy-phénylporphyrine (TMPP)	CoTMPP	(Cheng, Liu & Logan, 2006c; HaoYu <i>et al.</i> , 2007; Zhao <i>et al.</i> , 2005)
	ClFeTMPP	(Birry <i>et al.</i> , 2010)
	FeCoTMPP	(HaoYu <i>et al.</i> , 2007)
Polymère	Polypyrrole (Ppy)	(Yuan <i>et al.</i> , 2010)

Un polymère conducteur ayant présenté une activité catalytique a été évalué récemment comme catalyseur cathodique dans une pile microbienne. Le polypyrrole (Ppy) a permis une génération d'électricité supérieure à celle observée par le FePc, quoique inférieure au platine (Yuan *et al.*, 2010). Par contre, vu le coût avantageux de ce matériau, il constitue donc une alternative intéressante au platine.

Pour résumer, tous les matériaux mentionnés ont démontré une meilleure activité catalytique que le carbone/graphite pur et sans traitement, mais certains ont présenté des propriétés et performances les plaçant en tête de liste des remplaçants du platine. En effet, l'oxyde de manganèse, le Ppy, le FePc et le CoTMPP utilisés comme matériaux de cathodes ont permis aux piles microbiennes de générer une puissance électrique à peine moins élevée que lors de l'utilisation du platine, d'autant plus qu'ils ne présentent pas de conséquence adverse et sont beaucoup moins dispendieux (le ratio puissance/coût est élevé). Certaines cathodes de carbone/graphite traitées présentent aussi de bonnes performances, faisant de ces matériaux de bonnes alternatives puisqu'ils sont moins coûteux que les autres matériaux évalués.

1.4.2.2 Biocathodes

Certaines enzymes oxydantes reliées aux cytochromes catalysent la réduction de l'oxygène en eau en effectuant une réaction complète sans production d'intermédiaires toxiques. En effet, l'oxydation de l'oxygène s'effectue sur le platine en diverses étapes, dont la production de peroxyde d'hydrogène fait partie. De plus, cette oxydation est parfois partielle, alors que les enzymes possèdent l'habileté d'effectuer la réduction complète (Rismani-Yazdi *et al.*, 2008; Wang, 2005).

Une réaction cathodique basée sur les métabolismes microbiens est donc une des perspectives explorées comme matériaux de cathodes puisqu'elle offre plusieurs avantages : 1) la réduction des coûts de fabrication puisque les métaux nobles ou les médiateurs artificiels seraient évités; 2) l'évitement de l'empoisonnement ou de la perte des catalyseurs métalliques coûteux pendant l'opération du réacteur; 3) l'enlèvement non seulement de la charge organique mais aussi d'autres polluants tels les phosphates, les nitrates, les sulfures, ou autres ions métalliques (Mn^{4+} , Fe^{3+}); et 4) la production possible d'un produit utile (médicaments, hydrogène) (He & Angenent, 2006).

Dépendamment de l'accepteur final d'électron employé pour effectuer la réaction cathodique, les biocathodes peuvent être séparées en deux catégories : aérobie et anaérobie. L'oxygène est

l'accepteur d'électrons le plus souvent utilisé de par son abondance naturelle (donc son faible coût) et son potentiel de réduction élevé. Il a d'ailleurs été constaté que la réduction microbienne de l'oxygène peut être observée sur une cathode d'acier inoxydable (Bergel, Féron & Mollica, 2005; Dumas *et al.*, 2007) ou encore sur des tiges de carbone vitrifié par une multitude de micro-organismes aérobies stricts et facultatifs (Cournet, Délia, Bergel, Roques & Bergé, 2010). Toutefois, l'effet et le mécanisme de réduction de l'oxygène par les micro-organismes requièrent toujours d'être élucidés, quoique les cytochromes, les enzymes hydrogénases et certains médiateurs soient fortement soupçonnés d'être en cause dans cette réaction (He & Angenent, 2006; Rosenbaum, Aulenta, Villano & Angenent, 2010a). Une étude sur la réduction de l'oxygène par un biofilm marin mixte amène la potentialité d'interactions synergétiques entre les espèces présentes au sein du consortium (Erable *et al.*, 2010), donc la possibilité de multiples mécanismes de transferts d'électrons, tel que constaté pour les biofilms anodiques.

L'oxydation et la réduction microbienne du manganèse est un exemple de mécanisme bactérien aérobie pouvant être utilisé à la cathode. Ainsi, un dépôt de MnO_2 est effectué sur la cathode, oxyde qui est réduit en un composé intermédiaire en acceptant un électron et un proton, le MnOOH . Ensuite, ce composé est réduit en Mn^{2+} par l'arrivée d'un autre électron, le cation produit se retrouvant en solution. Finalement, les micro-organismes tel le *Leptothrix discophora* oxydent le Mn^{2+} en MnO_2 , qui est déposé sur la cathode, tout en transférant deux électrons à l'oxygène (Ehrlich, 1996; He & Angenent, 2006). La figure 1-7 illustre ce phénomène.

De façon similaire au Mn^{4+} , le fer peut servir de catalyseur, ce métal étant plus abondant que le manganèse. L'oxydation de Fe(II) en Fe(III) peut s'effectuer par certains micro-organismes, par exemple le *Thiobacillus ferrooxidans*. Par contre, le montage employé pour la démonstration de ce phénomène nécessitait un apport externe de courant (Ehrlich, 1996; He & Angenent, 2006; Lovley, 2008). Ainsi, il reste encore à étudier la possibilité pour de tels micro-organismes d'accomplir l'oxydation du Fe(II) en utilisant les électrons générés par l'oxydation anodique microbienne.

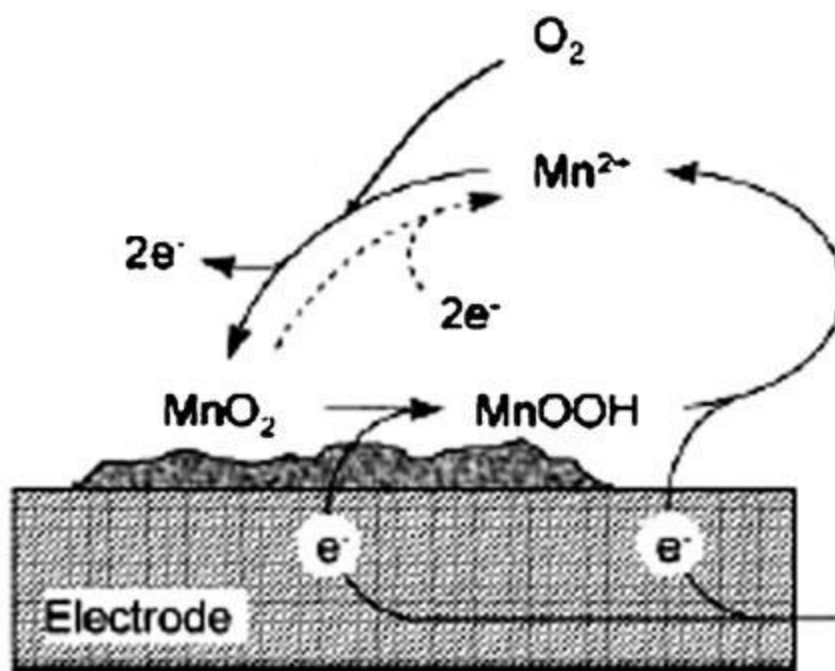


Figure 1-7 : Biocathode où s'effectuent la réduction et la déposition du MnO_2 (modifiée d'après He & Angenent, 2006)

Une cathode biologique s'est avérée fonctionnelle dans une pile à combustible microbienne où les compartiments anodique et cathodique ont respectivement été inoculés avec une flore bactérienne anaérobie et aérobie (Zhang, Zhao, Aelterman, You & Jiang, 2008a). Dans un tel cas, la puissance observée était tout de même notable ($24,7 \text{ W m}^{-3}$), mais son avantage se situe principalement au niveau des catalyseurs (bactéries aérobies) très bon marché. Par contre, la résistance interne du système était grande et principalement limitée par le métabolisme microbien à la cathode.

D'autres réacteurs avec une biocathode aérobie ont aussi démontré de bonnes performances, soit plus de deux fois supérieures à l'étude précédente. En effet, des puissances maximales de 65 et $68,4 \text{ W m}^{-3}$ ont pu être observées, dépassant plusieurs puissances obtenues avec d'autres piles microbiennes à cathodes abiotiques (Clauwaert *et al.*, 2007b; You, Ren, Zhao, Wang & Yang, 2009). Néanmoins, tel que mentionné auparavant, il est ardu de comparer objectivement les performances de différentes piles utilisées dans diverses études car ces piles possèdent rarement les mêmes configurations, conditions d'opération et surtout matériaux de cathodes, influençant

grandement la puissance pouvant être tirée de tels systèmes (Oh, Min & Logan, 2004). Par exemple, à l'opposé des travaux sur les biocathodes cités auparavant, d'autres études ont plutôt obtenu des puissances des piles allant de 2,6 à 15 W m⁻³ (Chen, Cha, Choi, Lee & Kim, 2010; Rabaey *et al.*, 2008). Toutefois, toutes les études laissent entrevoir la possibilité d'une biocathode comme catalyseur de la réduction de l'oxygène. Il est à noter par contre que l'application d'oxydes de manganèse sur la cathode a augmenté la vitesse du démarrage du réacteur, sans en améliorer les performances à long terme (Clauwaert *et al.*, 2007b).

En absence d'oxygène, plusieurs composés peuvent servir d'accepteurs d'électrons tels le nitrate (Chen *et al.*, 2008; Clauwaert *et al.*, 2007a; Gregory, Bond & Lovley, 2004; Lefebvre *et al.*, 2008; Viridis, Rabaey, Yuan & Keller, 2008), le sulfate, le fer, le manganèse, le sélénate, l'arséniate, l'urate, le fumarate (Dumas, Basseguy & Bergel, 2008), les composés chlorés (Strycharz *et al.*, 2008), le chrome (Ehrlich, 1996; Tandukar, Huber, Onodera & Pavlostathis, 2009), l'uranium (Gregory & Lovley, 2005) et le dioxyde de carbone. Dans un tout autre ordre d'idée, la production de biohydrogène à la cathode est une autre option ayant été explorée par Rozendal et son équipe (Rozendal, Jeremiasse, Hamelers & Buisman, 2007).

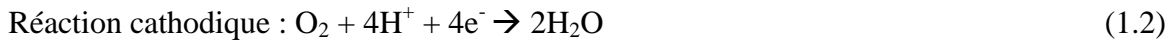
Le nitrate, le fer et le manganèse possèdent une activité anaérobie et un potentiel de réduction très près de ceux de l'oxygène, alors que le sulfate et le dioxyde de carbone présentent une activité et un potentiel redox beaucoup moindres, rendant les premiers composés cités plus attrayants comme accepteurs d'électrons finaux. L'avantage d'une réaction cathodique anaérobie est l'absence d'oxygène pouvant diffuser dans la pile à combustible microbienne et déviant une partie des électrons devant être captés par l'anode (He & Angenent, 2006).

Il a été montré que certains micro-organismes effectuant la dénitrification étaient capables d'utiliser les électrons provenant de la cathode plutôt que de s'en procurer par l'oxydation d'un substrat. Ainsi, un groupe de recherche dans le domaine des piles microbiennes a effectué à la fois l'enlèvement des composés organiques à l'anode et l'enlèvement des nitrites (NO₂⁻) et des nitrates (NO₃⁻) par leur réduction à la cathode avec un rendement acceptable (Viridis *et al.*, 2008). Par contre, ce système nécessite d'oxyder les cations d'ammonium dans un tiers réacteur avant de retourner ce liquide traité dans le compartiment cathodique. Il a été montré dans une autre étude que le transfert d'électrons entre la cathode et le nitrate pouvait être effectué par une espèce commune dans les populations de piles microbiennes, soit *Geobacter* (Gregory *et al.*, 2004).

1.5 Aspects électrochimiques des piles à combustible microbiennes

Malgré la multitude de substrats pouvant servir de combustible, l'acétate demeure un substrat très utilisé, la simplicité de sa structure chimique faisant qu'il ne génère pas de composés organiques lors de son oxydation. Cette réaction sera donc celle discutée dans cette section.

Les réactions globales prenant place aux deux électrodes sont les suivantes (Chaudhuri & Lovley, 2003; Shukla *et al.*, 2004):



Le potentiel théorique de l'anode par rapport à l'électrode normale à hydrogène (ENH) est donné par l'équation (1.3), où le potentiel théorique de l'anode E_{an}^0 pour l'acétate est de 0,187 V, les concentrations $[\text{CH}_3\text{COO}^-] = [\text{HCO}_3^-] = 0,017 \text{ mol (1 g L}^{-1} \text{ d'acétate) à pH = 7 ([H}^+] = 10^{-7})$, R est la constante universelle des gaz parfaits ($8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), T est la température en degré Kelvin (298 K pour la température ambiante), n est le nombre d'électrons libérés par l'oxydation de l'acétate, soit 8, et F est la constante de Faraday ($96485,34 \text{ C mol}^{-1}$) (Logan *et al.*, 2006).

$$E_{an}^{th} = E_{an}^0 - \frac{RT}{nF} \ln \left(\frac{[\text{CH}_3\text{COO}^-]}{[\text{HCO}_3^-]^2 [\text{H}^+]^9} \right) = -0,292 \text{ V}. \quad (1.3)$$

De la même façon, le potentiel théorique de la cathode est déterminé par l'équation (1.4), où E_{cath}^0 est de 1,229 V à pH = 7, et n = 4 pour l'oxygène, sa pression partielle étant de 0,2.

$$E_{cath}^{th} = E_{cath}^0 - \frac{RT}{nF} \ln \left(\frac{1}{p\text{O}_2 [\text{H}^+]^4} \right) = 0,805 \text{ V}. \quad (1.4)$$

La force électromotrice d'une cellule électrochimique est donnée par $E_{\text{fem}} = E_{cath}^{th} - E_{an}^{th}$ à pH identique pour les deux réactions. Ainsi, en théorie, une pile à combustible microbienne alimentée par l'acétate devrait pouvoir atteindre un potentiel de $(0,805 - (-0,292)) = 1,097 \text{ V}$. Par contre, cette valeur demeure théorique et dans la réalité, plusieurs pertes surviennent, comme dans tout système électrochimique, soit les pertes dues aux réactions parasitiques, les pertes d'activation, ohmiques et de concentration. Ces pertes sont illustrées sur la courbe de polarisation présentée à la figure 1-8.

Dans toutes piles, les réactions parasitiques empêchent l'atteinte de la tension théorique calculée, ces réactions consistant principalement à l'adsorption des espèces en solution à la surface des

électrodes, espèces qui peuvent être impliquées ou non dans la réaction électrochimique. Les pertes d'activation se manifestent parce que les réactions d'oxydation et de réduction nécessitent de l'énergie afin d'être accomplies. Ces pertes surviennent lors du transfert d'électrons vers ou à partir des substances réactives aux électrodes, comprenant aussi les réactions résultant du métabolisme de respiration microbienne. Ces pertes sont généralement plus grandes à faible densité de courant et croissent très lentement en augmentant le courant. Il est possible de minimiser ces pertes en augmentant la surface des électrodes, l'activité catalytique des électrodes ou par l'établissement d'un biofilm enrichi sur l'anode (Clauwaert *et al.*, 2008; Logan *et al.*, 2006; Rismani-Yazdi *et al.*, 2008).

Les chutes ohmiques sont attribuées à la résistance au flux des électrons dans les électrodes et dans le circuit électrique externe, de même que la résistance à la circulation des ions dans l'électrolyte et au travers de la membrane polymérique lorsque cette dernière est présente. Cette résistance, grandement influencée par le design des réacteurs, peut être diminuée en rapprochant les deux électrodes, en augmentant la conductivité des matériaux utilisés comme électrodes ou pour le circuit électrique externe ou encore en augmentant la conductivité de l'électrolyte à la limite de la tolérance des bactéries (Clauwaert *et al.*, 2008; Liang, Huang, Fan, Cao & Wang, 2007; Logan *et al.*, 2006; Rismani-Yazdi *et al.*, 2008).

Finalement, les pertes de concentration surviennent lorsque le transport des espèces impliquées dans les réactions électrochimiques voyageant vers et depuis les électrodes limite la production d'électricité. Ces pertes se produisent principalement à une grande densité de courant à cause de la diffusion limitée des espèces chimiques aux électrodes. À l'anode, ces pertes sont causées par la limitation de la décharge des espèces oxydées à l'électrode ou par la limitation de l'approvisionnement à l'anode d'espèces réduites. L'inverse de ces phénomènes à la cathode peut de la même façon produire une baisse du potentiel cathodique. Un bon mélange des fluides du système permet de restreindre les limitations en diffusion des espèces dans le biofilm, limitation pouvant aussi causer des pertes de transport de masses (Clauwaert *et al.*, 2008; Logan *et al.*, 2006; Rismani-Yazdi *et al.*, 2008).

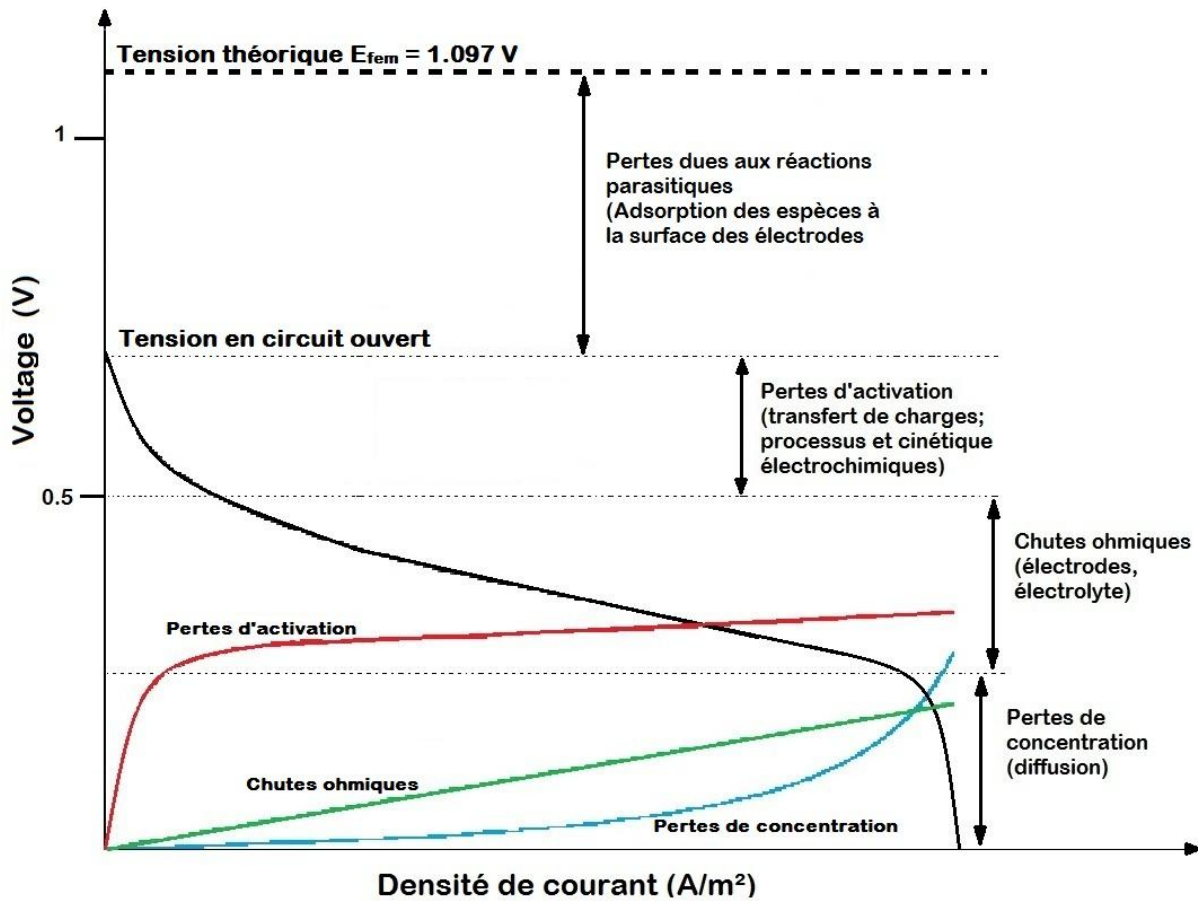



Figure 1-8 : Courbe de polarisation d'une pile à combustible microbienne (noire) et pertes associées : activation (rouge), ohmiques (vert) et concentration (bleu)

Ainsi, le potentiel mesuré de la pile à combustible microbienne (E_{MFC}) peut être considéré comme étant donné par la force électromotrice à laquelle on soustrait les pertes liées à la surtension des électrodes (η) et aux pertes ohmiques du système, selon l'équation suivante :

$$E_{MFC} = E_{fem} - |\eta_{cath}| - \eta_{an} - I \cdot R_{\Omega} \quad (1.5)$$

où $\eta_{an} = E_{an}^{mesuré} - E_{an}^{CO}$ (CO : circuit ouvert) et idem pour la cathode. La surtension des électrodes comprend les pertes dues à l'activation, au métabolisme bactérien et au transport de masse (*i.e.* de concentration) (Logan *et al.*, 2006).

À partir du potentiel mesuré, il est possible d'évaluer la puissance générée par la pile de deux façons. Ainsi, d'une part on utilisera la loi d'Ohm $V = R_{ext} \cdot I$ pour évaluer le courant généré (I), où V est le voltage mesuré de la pile (E_{MFC}) et R_{ext} la résistance externe reliant les deux

électrodes (représentée par  sur la figure 1-2), pour ensuite calculer la puissance $P = V \cdot I$. L'autre méthode consiste à mesurer simultanément le potentiel et le courant produit par la pile pour directement calculer la puissance.

Il est possible d'estimer la résistance interne du système (R_{int}) lorsque le courant généré se situe dans la région linéaire de la figure 1-8 en utilisant l'équation 1.6, où E_{VCO} est le voltage en circuit ouvert (VCO, la tension de la cellule lorsqu'il n'y a pas de courant) :

$$R_{int} = \frac{E_{VCO} - E_{MFC}}{I} \quad (1.6)$$

L'estimation de la résistance interne peut être plus juste en calculant la pente de la partie linéaire de la courbe de polarisation à la figure 1-8. De la même façon, il est possible de mesurer le potentiel des électrodes lors de la polarisation et d'évaluer leur résistance en calculant la pente des courbes V vs I obtenues. Cette estimation des résistances est relativement précise tout en tenant compte des pertes d'activation, ohmiques et de concentration. Toutefois, la technique de spectroscopie d'impédance électrochimique est un meilleur outil pour évaluer individuellement les différentes résistances du système (Clauwaert *et al.*, 2008; Logan *et al.*, 2006).

Pour générer l'énergie qu'ils utilisent pour eux-mêmes, les micro-organismes échangent des électrons arrachés à un substrat à bas potentiel vers un accepteur final hors des cellules à potentiel élevé, et ce, via la chaîne de transport intracellulaire. Les réactions d'oxydation des substrats organiques se produisent à un potentiel entre approximativement -0,4 et 0 V, dépendamment des voies métaboliques microbiennes et des micro-organismes. Dans le cas d'une pile microbienne, l'anode est l'accepteur d'électron final, et la différence de potentiel entre l'oxydation intracellulaire du substrat et le dernier transfert à l'anode détermine le gain énergétique des micro-organismes, un potentiel anodique élevé leur étant favorable. Par contre, plus l'anode possède un haut potentiel, plus les micro-organismes gagnent de l'énergie et moins la pile montrera un voltage élevé, réduisant par le fait même la puissance pouvant être générée (Logan *et al.*, 2006).

Il a par contre été montré récemment qu'à partir d'un certain potentiel anodique, l'activité microbienne diminue grandement, supposant que l'activité et la génération de courant possèdent un optimum à un potentiel anodique entre -256 et -220 mV (Cheng, Ho & Cord-Ruwisch, 2008). Dans un même ordre d'idée, un potentiel imposé de -200 mV a démontré générer plus d'électrons

par grammes de biomasse (biomasse plus active) que des potentiels imposés de 0 et 200 mV (Aelterman *et al.*, 2008a). Ce phénomène est expliqué en supposant qu'un plus faible gain énergétique pour les micro-organismes induit une plus grande activité de ceux-ci, ces micro-organismes étant de la sorte capables de concurrencer d'autres bactéries électroactives à des potentiels anodiques plus élevés et ainsi de modifier le potentiel de l'anode pour leur propre bénéfice (Clauwaert *et al.*, 2008).

L'oxydation du combustible est effectuée de façon microbiologique par les micro-organismes électricigènes attachés à l'anode. Il est pensé que le transport des réactifs et produits au sein du biofilm est la clé de la performance des piles à combustible microbiennes, celui-ci étant limité principalement par la diffusion (Richter *et al.*, 2009; Rodriguez, Batstone, Yuan & Rabaey, 2007; Torres, Marcus & Rittmann, 2008). Cette supposition est remise en doute par une étude de spectroscopie d'impédance (Ramasamy, Ren, Mench & Regan, 2008b) qui montre que le facteur limitant est le transfert de charge s'effectuant à l'anode, la pile n'ayant pas montré de limitation en diffusion des espèces. De plus, cette étude a démontré qu'un biofilm à électroactivité importante croît efficacement lorsque soumis à un environnement propice, soit l'accès à un accepteur d'électron solide permettant une grande génération de courant (donc lié à une cathode non limitante). Une étude approfondie par diverses techniques sous diverses conditions d'opération pourrait déterminer quelles sont vraiment les causes limitant la puissance générée par les piles microbiennes, qui nécessitent encore aujourd'hui d'être démystifiées afin de pouvoir adapter ce système à des applications pratiques dans un futur rapproché.

CHAPITRE 2 DÉMARCHE ET ORGANISATION DE LA RECHERCHE

Le domaine des piles à combustible microbiennes est en plein essor depuis près d'une vingtaine d'années, mais jusqu'à maintenant son perfectionnement se déroule principalement en laboratoire afin de démystifier tous les recoins de cette technologie. Comme il a été mentionné dans le chapitre 1 « Revue de littérature », plusieurs aspects des piles microbiennes ont été évalués, tant les matériaux d'électrodes, les conditions d'opération et la configuration des réacteurs que la compréhension fondamentale du travail des microorganismes au sein de ces piles. Toutefois, ces études sont fonction des conditions expérimentales et ne peuvent être transposées sur toutes les piles microbiennes. Cette thèse, qui a pour but d'élucider l'influence des conditions d'opération et de la configuration de la pile évaluée dans ce projet sur sa performance générale, s'insère dans le travail déjà effectué en apportant à la communauté scientifique un regard pointu au niveau de l'électrochimie tout en employant des techniques moins utilisées jusqu'à présent. De plus, certains acquis peuvent refléter des comportements généralisés à d'autres types de piles. La connaissance approfondie des facteurs influençant directement la puissance pouvant être générée par une pile microbienne est ainsi d'une importance accrue afin que cette technologie puisse passer à un niveau supérieur, soit son application pratique dans l'industrie.

La figure 2-1 résume la démarche et l'organisation de la recherche composant cette thèse, où l'on remarque le lien qui est fait entre les conditions d'opération et les configurations des piles à combustible microbiennes avec la réponse électrochimique et les analyses physico-chimiques, ceci permettant de conclure sur les performances générales des piles, leur efficacité et leurs limitations. Une description de chacun des articles est aussi effectuée dans ce chapitre, mettant au premier plan la cohérence de ceux-ci par rapport aux objectifs établis et leur contribution pour la communauté scientifique ainsi que l'avancement des piles à combustible microbiennes.

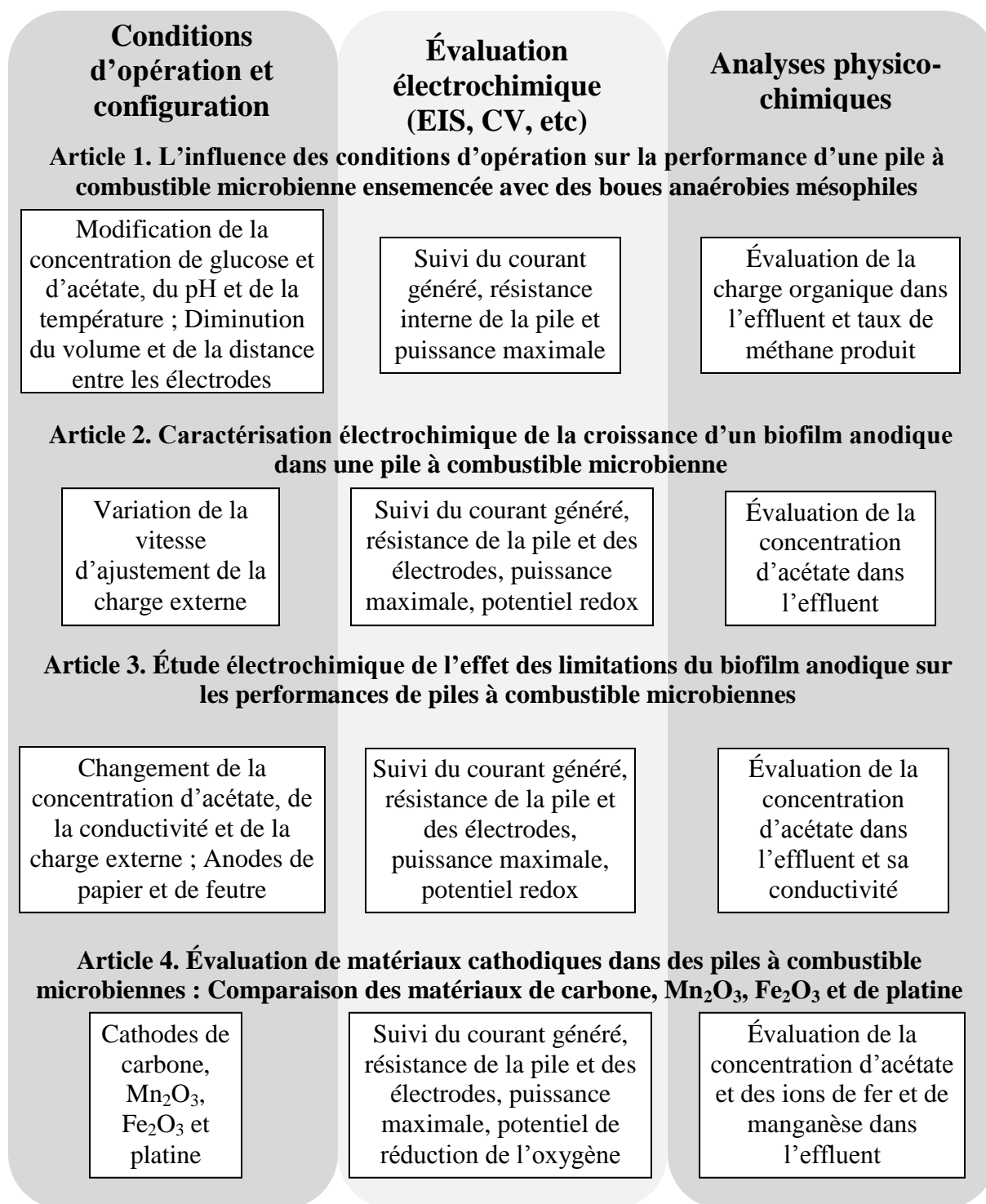


Figure 2-1 Résumé de la démarche et de l'organisation de la thèse

Le premier article traite de l'influence de la variation de certaines conditions d'opération (charge organique, pH, température) et de différentes configurations (distance entre les électrodes, volume de la pile) sur l'efficacité et la puissance pouvant être produite par notre pile à combustible microbienne. Tel que mentionné précédemment, toutes ces situations influencent la performance générale des piles microbiennes, et l'identification de leurs effets et limitations fait partie du premier objectif principal fixé. Il sera montré comment ces variations permettront d'identifier les effets bénéfiques ou néfastes sur les différentes populations au sein du réacteur, principalement les espèces électrigènes et méthanogènes, exposant ainsi la compétition régnant entre elles. De plus, des valeurs optimales conduisant à l'amélioration significative de la performance de la pile seront déterminées. Ces relations étant connues, il devient possible d'améliorer l'efficacité et la puissance de nos piles microbiennes en favorisant les espèces électrigènes et en diminuant les pertes liées à la configuration de la pile. Plusieurs de ces observations peuvent de plus être transposées à d'autres types de piles microbiennes, permettant l'avancement des connaissances générales dans ce domaine.

L'efficacité et la puissance des piles à combustible microbiennes sont aussi dépendantes de la quantité de microorganismes électrigènes peuplant l'anode, ceux-ci jouant le rôle de catalyseurs de la réaction d'oxydation tel qu'énoncé au chapitre 1. Le premier objectif fixé étant l'évaluation des conditions limitant la performance des piles, l'influence de la vitesse d'ajustement de la résistance externe sur le développement du biofilm anodique sera approfondi. Il est ainsi mis en évidence l'effet de cette condition d'opération avec le développement des espèces électrigènes en rapport aux autres espèces microbiennes. De plus, il sera montré que le développement du biofilm est responsable de la limitation en diffusion de la réaction anodique, ceci s'inscrivant dans le deuxième objectif principal consistant à étudier les phénomènes de transfert de charges aux électrodes. Ainsi, ces résultats peuvent se rapporter à d'autres piles microbiennes ayant été inoculées avec des sources bactériennes mixtes, et conduire à l'amélioration de la performance des piles éventuellement développées en milieux industriels.

Après avoir démontré l'influence de la diffusion sur le transfert de charge siégeant à l'anode, l'éclaircissement de cette limitation dans un biofilm mature sera traité dans le troisième article, et ce, en variant une fois de plus diverses conditions d'opération (charge organique, conductivité, charge externe) de même qu'en employant deux types d'anodes (papier et feutre de carbone) pour leur différente géométrie. Ces expérimentations sont donc partie intégrante des objectifs établis

en évaluant les causes de limitations sur l'activité des catalyseurs biologiques à l'anode, et par incidence directe, sur la performance et l'efficacité des piles à combustible microbiennes. Ces clarifications servent à l'amélioration des systèmes en optimisant des conditions d'opération différentes et en améliorant d'autres aspects du design. Ces connaissances conduisent ainsi au perfectionnement des multiples types de piles microbiennes, menant à un fonctionnement et une puissance accrus permettant d'envisager leur implantation industrielle prochaine.

Finalement, l'évaluation de nouveaux matériaux de cathodes alternatifs au platine sera traitée dans le quatrième article. Des poudres de carbone, de Fe_2O_3 et de Mn_2O_3 ont été choisies pour étudier leur potentiel à stimuler le développement d'une biocathode, les matériaux et les biocathodes étant tous deux des éléments très récents de la recherche sur les piles à combustible microbiennes. Ainsi, cette partie de la présente étude s'inscrit à nouveau dans les deux objectifs principaux, soit l'évaluation des performances et limitations de la pile selon les matériaux de cathodes, de même que l'étude des transferts de charges siégeant à cette même électrode. Ces résultats amèneront un regard inédit sur le rôle potentiel des biocathodes aérobies et contribueront au développement de nouveaux matériaux cathodiques à base de métaux non nobles, ceux-ci permettant une diminution substantielle des coûts reliés à l'implantation de cette technologie.

CHAPITRE 3 THE INFLUENCE OF OPERATIONAL CONDITIONS ON THE PERFORMANCE OF A MICROBIAL FUEL CELL SEEDED WITH MESOPHILIC ANAEROBIC SLUDGE

Article publié dans *Biochemical Engineering Journal* le 15 septembre 2010

Auteurs : Edith Martin, Oumarou Savadogo, Serge R. Guiot et Boris Tartakovsky

3.1 Abstract

In this work, the influence of operational parameters such as organic load, pH and temperature on power generation and methane production was studied in a continuous flow air-cathode microbial fuel cell (MFC) seeded with mesophilic anaerobic sludge. Power generation was accompanied by methane production, when fed with either glucose or acetate, however the ratio of methane-to-electricity production strongly depended on operational conditions. At a pH of 7, electricity production exhibited an Andrews-like dependence on carbon source concentration, whereas methane production followed a Monod-like dependence. pH-stat tests showed maximal power output at a pH of 6,3, which coincided with a decreased methane production. Cathode heating to 62°C resulted in increased electricity generation with an insignificant increase in methane production.

Keywords : MFC; organic load; pH; temperature; methanogenesis

3.2 Introduction

Electricity production in a microbial fuel cell (MFC) offers an alternative method of power generation, where a broad range of renewable carbon sources can be used [1-7]. In a MFC, anodophilic microorganisms degrade organic matter and transfer electrons to the anode via membrane-bound proteins, nanowires, or by self-produced mediators [8-10]. MFC studies suggest that electricigenesis is widespread among microbial communities. Diverse sources of anodophilic microorganisms, such as anaerobic sludge [11], activated sludge [12], domestic wastewater [13], and marine sediments [14] have successfully been used for MFC inoculation.

Application of MFC technology for wastewater treatment might require the presence of a mixed microbial consortium capable of hydrolysis and fermentation of long-chain carbohydrates and proteins to readily degradable substrates such as volatile fatty acids, which is why an anaerobic mesophilic sludge with its diverse microbial community of hydrolytic, fermentative, acidogenic, and acetogenic microorganisms is a good inoculum choice. However, the anaerobic sludge also contains significant methanogenic population, which is expected to compete with the anodophilic microorganisms for acetate, thereby decreasing the apparent Coulombic efficiency of power generation [15-17]. Previous studies have evaluated power production from a variety of carbon sources [3, 4, 6] and have shown the co-existence of methanogenic and anodophilic microorganisms [17, 18] as well as the influence of pH, organic load, and temperature on MFC performance [19-24], but their focus was mainly on electricity production. Also, most of the previous tests were conducted in fed-batch MFCs [21, 23, 24], which complicated the analysis of the process kinetics. In this study, a steady state approach was used to evaluate the impact of operating conditions on the electricity and power production in a continuous-flow MFC.

3.3 Materials and methods

3.3.1 MFC design and operation

Two single chamber MFCs with air-cathodes [25] were used. The cathodes were gas diffusion electrodes (GDE) with a Pt load of 0.5 mg cm^{-2} (GDE-LT-120EW, E-TEK Division, PEMEAS Fuel Cell Technologies, Somerset, NJ, USA). To prevent water losses through the cathode surface, a silicon spray (Silicone Water-Guard, Atsko Inc, Orangeburg, SC, USA) was used to create a hydrophobic coating on the side of the cathode exposed to air. The anodes consisted of a $5 \times 10 \text{ cm}$ piece of carbon felt (Speer Canada, Kitchener, ON, Canada) with a thickness of 5 mm.

The anodic chambers were made of polycarbonate plates. One MFC (MFC-1) was assembled using two plates and had a volume of 110 mL. The distance between the electrodes in this MFC was 1.5 cm and the anode occupied only 25% of the chamber volume. Another MFC (MFC-2) contained one anodic plate so that the chamber volume was reduced to 50 mL. In this MFC a layer of J-Cloth[®] was used to separate the electrodes, providing an electrode spacing of approximately 1 mm and reducing electrolyte ohmic resistance.

Mixing in the anodic chamber was achieved by liquid recirculation at $0,57 \text{ L h}^{-1}$ by a peristaltic pump placed in the external recirculation loop (Fig. 3-1). Gas production was measured by electronic bubble counters (Innoray Inc, Montreal, Canada) installed at the gas exits. The anodic chamber pH was maintained at a preset level by a pH controller using $0,05 \text{ N NaOH}$.

Temperature was measured by thermocouples installed in the carbon felt, in the anodic liquid between the electrodes, and between the cathode and the heating plate. The temperature was controlled using a temperature controller (JCR-33A, Shinko, Osaka, Japan) and a $5 \times 8 \text{ cm}^2$ heating plate placed on anodic chamber wall. An additional heating plate was installed on the cathode side of the MFC-1 chamber as shown in Fig. 3-1. Graphite rods (2 mm diameter) were placed between this heating plate and the cathode to allow for air circulation. Unless specified, the anodic liquid thermocouple and the heater installed on the anode side were used for temperature control.

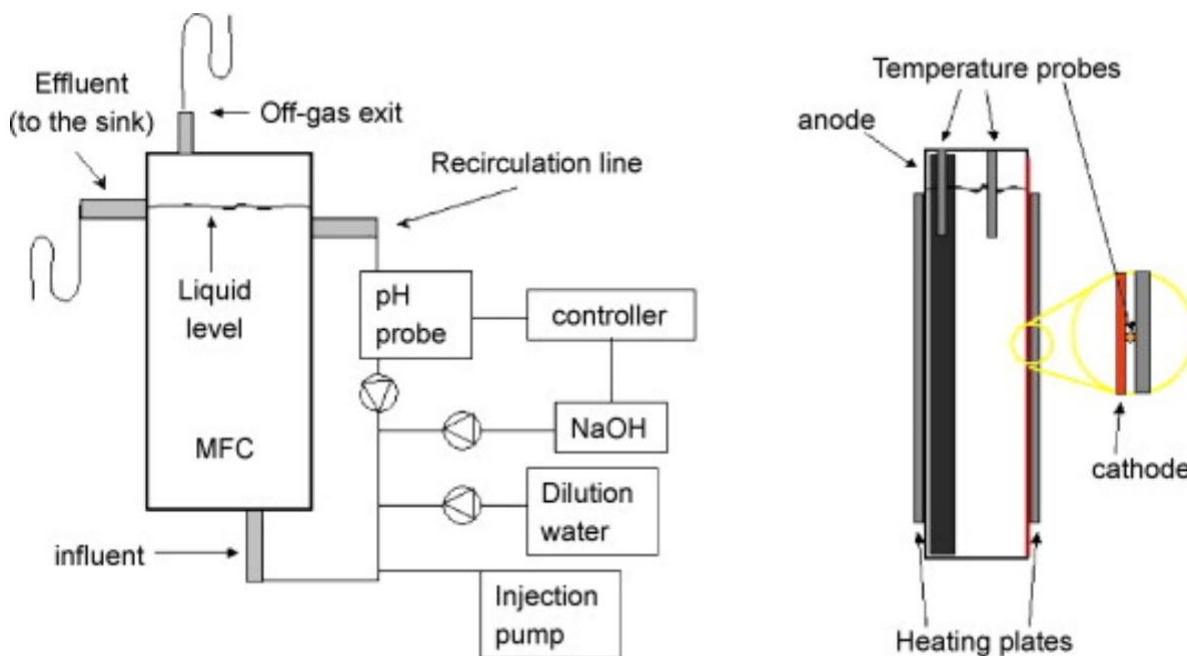


Figure 3-1: Diagram of continuous flow MFC setup (left panel) and anodic chamber diagram showing positions of heaters, thermocouples, and electrodes (right panel)

The MFCs were operated in a continuous flow mode with a retention time of 12 h. Stock solutions of glucose or acetate and nutrients were combined in a single concentrated solution and fed at a rate of 5 mL day^{-1} by an infusion pump (NE-1000, New Era Pump Systems Inc, USA). Dilution water was fed with a peristaltic pump and combined with the nutrient stream before entering the anodic chamber. MFC operation was carried out at several combinations of organic

load, pH, and temperature, as described in Table 3.1 and Table 3.2. Each set of operational parameters was maintained for at least 3 days to insure steady state conditions. Experimental results obtained at steady-state were used for performance evaluation. Overall, each MFC was operated for about 4 months.

3.3.2 Inoculum, media composition, and analytical methods

The anodic compartments of the MFCs were inoculated with 3 mL of homogenized anaerobic mesophilic sludge ($VSS = 50 \text{ g L}^{-1}$) (A. Lassonde Inc., Rougemont, Quebec, Canada). The stock solution of nutrients contained (g L^{-1}): yeast extract (0,93), NH_4Cl (18,68), KCl (148,09), K_2HPO_4 (64,04), KH_2PO_4 (40,69), and glucose or acetate. The stock solution of microelements contained (in g L^{-1}): $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2), H_3BO_3 (0,05), ZnCl_2 (0,05), CuCl_2 (0,03), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0,5), $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0,05), AlCl_3 (0,05), $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,05), NiCl_2 (0,05), EDTA (0,5) and concentrated HCl (1 μL). 1 mL of this stock solution was added to each litre of dilution water. The concentration of sodium acetate (anhydrous) in the stock solution was varied from 27,3 to 109,3 g L^{-1} and glucose concentration was varied from 4 to 160 g L^{-1} in order to obtain the desired organic load. All stock solutions were filter-sterilized. The influent solution, which combined dilution water, microelements, and nutrients, had a conductivity of 14-16 mS cm^{-1} .

Glucose and lactate concentrations were measured by high-performance liquid chromatography (HPLC, Waters Chromatography, Milford, MA, USA) with a PDA detector model 2996. The detection limit for glucose was 0,5-1,0 mg L^{-1} . Volatile fatty acids (acetic, butyric and propionic) were measured by gas chromatography (GC) using an Agilent 6890 (Wilmington, DE) with a detection limit of 0,2 mg L^{-1} . Gas composition was measured using a gas chromatograph (6890 Series, Hewlett Packard, Wilmington, DE). Method details can be found elsewhere [11].

3.3.3 Electrical measurements and calculations

MFC-1 polarization curves were acquired by manually changing the external resistance (R_{ext}). The resistance was changed from 5000 Ω to 10 Ω . An interval of 10 min was allowed between the changes. During MFC-2 operation polarization tests were performed using a potentiostat (273A, Princeton Applied Research, Tennessee, USA). The anode was employed as a working electrode, while the cathode was used as a counter and reference electrode. The anode and cathode potentials were measured against an Ag/AgCl reference electrode (222 mV vs NHE)

using a data acquisition card (LabJack U12, LabJack Corporation, Colorado, USA). The polarization test was performed starting from open-circuit potential (OCP) to short-circuit potential at a scan rate of $0,5\text{mV s}^{-1}$.

MFC internal resistance (R_{int}) was estimated from the linear part (i.e. ohmic losses) of the polarization curve (E_{MFC} vs I). Anode and cathode potentials were also plotted against the current, where available, which permitted to evaluate the total internal resistances of the anode (R_A) and cathode (R_C) as the slope of the linear part of the corresponding curves.

Apparent Coulombic efficiency (CE_A) was calculated as

$$CE_A(\%) = \frac{I \cdot \Delta t \cdot M}{F \cdot n \cdot W} \cdot 100\% \quad (3.1)$$

where I is the average current (A); Δt is the time interval during which current was measured (s); M is the substrate molecular weight (180 g and 60 g for glucose and acetate, respectively); F is the Faraday constant, 96485 (C mol⁻¹), n is the number of electrons per mol of the substrate (24 and 8 for glucose and acetate, respectively); W is the amount of substrate consumed (g). For a continuous flow cell W was estimated as $W = F_L(S_{\text{in}} - S)$, where F_L is the liquid flow rate (L s⁻¹), S_{in} is the influent substrate concentration (g L⁻¹), and S is the bulk substrate concentration in the anodic chamber (g L⁻¹). Because of intensive mixing, the bulk and effluent substrate concentrations were assumed to be equal.

Substrate equivalent (W_E) of a current I generated over a period of time Δt was calculated assuming $CE_A=100\%$:

$$W_E = \frac{I \cdot \Delta t \cdot M}{F \cdot n} \quad (3.2)$$

3.4 Results

3.4.1 Glucose tests

Following the inoculation, MFC-1 was operated at an external resistance of 200 Ω . A gradual voltage increase was observed during the first 9 days of operation with the output voltage stabilizing at 0,37 - 0,40 V. At a glucose loading rate of 1,9 g L_A⁻¹ day⁻¹ (L_A: anode compartment volume in liter), the anodic chamber liquid contained 30-37 mg L⁻¹ propionate, and 21-80 mg L⁻¹ of acetate. The glucose concentration was below the level of detection. In addition to electricity

generation, methane production was also observed. The biogas production rate was 40 - 50 mL day⁻¹. On average this biogas contained 77% CH₄, which corresponded to an apparent methane yield of 0,07 L-CH₄ (g-COD)⁻¹.

To study the influence of the organic load on MFC performance, the glucose load was varied from 0,2 to 7,4 g L_A⁻¹ day⁻¹ in several steps, while maintaining constant hydraulic retention time and pH (Table 3.1). Stable power generation was observed approximately 24 h after each change in glucose load. At all glucose loads tested, glucose was not detected in the anodic liquid suggesting a rapid transformation of glucose to volatile fatty acids (VFAs), with acetate as the main observed degradation product, and propionate to a lesser extent. At the highest glucose load, 5,8 mg L⁻¹ of lactate was also detected in the anodic liquid. The carbon source concentration in the anodic chamber liquid (bulk concentration) was calculated by a summation of all measurable products of glucose degradation and expressed in its chemical oxygen demand (COD) equivalent.

Polarization tests shown in Fig. 3-2 were conducted at each glucose load to estimate total internal resistance and maximal power output. These values are summarized and compared with corresponding glucose loads in Fig. 3-3. This comparison shows that power output increased with increasing the glucose load up to 2 g L_A⁻¹ day⁻¹ such that the highest R_{int} estimation was obtained at the lowest glucose load. Further increase of the load above 4 g L_A⁻¹ day⁻¹ led to a decreased power output. Accordingly, at glucose loads above 0,46 g L_A⁻¹ day⁻¹, R_{int} decreased to 70-80 Ω, but increased at the highest glucose load. Methane production was directly proportional to the glucose load and reached its maximum (0,7 L L_A⁻¹ day⁻¹) at the highest glucose load of 7,4 g L_A⁻¹ day⁻¹ (Table 3.1).

In spite of a relatively low Coulombic efficiency, combined anodophilic and methanogenic activity provided high COD removal efficiency in a broad range of organic loads, as can be seen from the material balance presented in Table 3.1. Overall, for glucose loads between 0,2 and 3,7 g L_A⁻¹ day⁻¹, there was 82 - 93% COD removal efficiency.

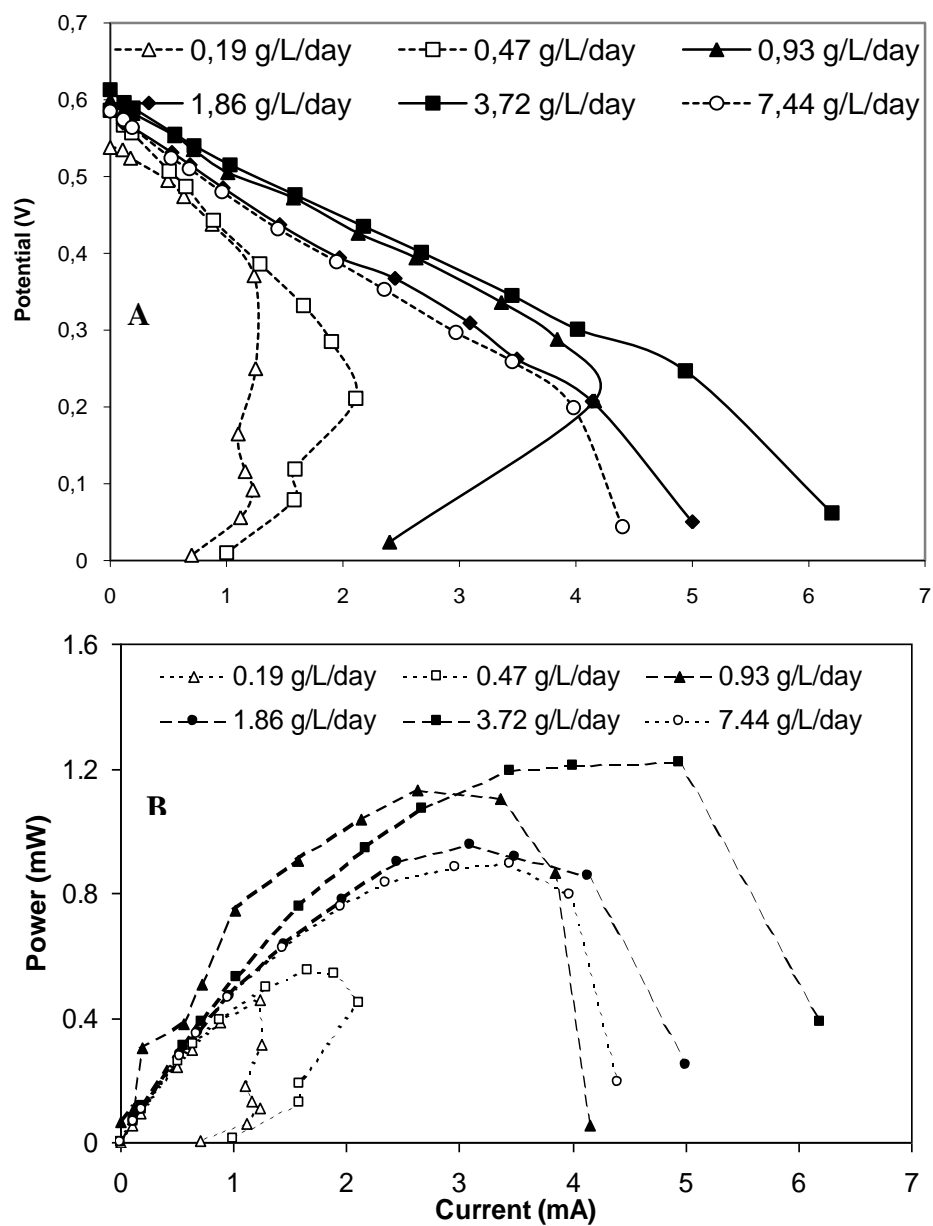


Figure 3-2: Polarization (A) and power (B) curves obtained at different organic loads of glucose in MFC-1. The curves were acquired by decreasing external resistance from 5000 to 5 Ω with 10 min intervals between resistance changes

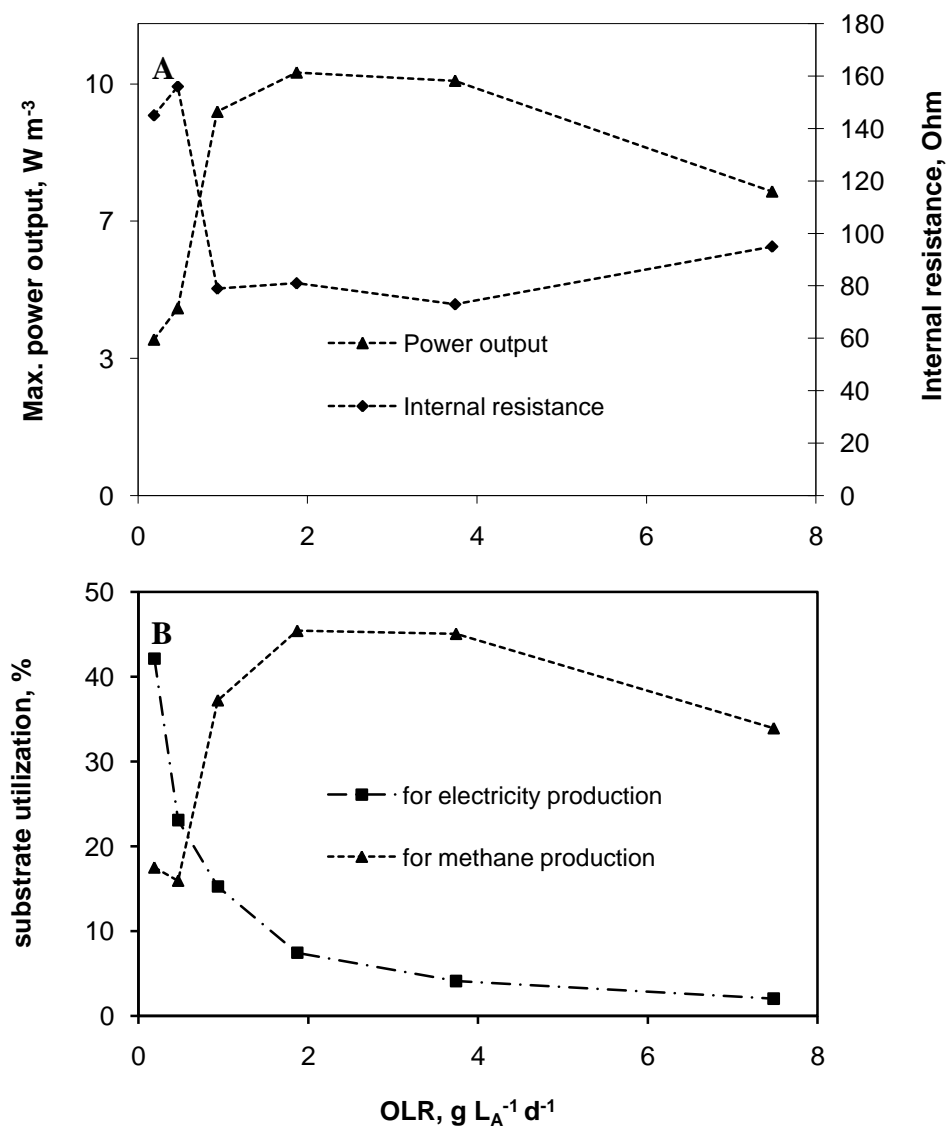


Figure 3-3: The effect of organic load in MFC-1 on (A) cell internal resistance, power generation at optimal R_{ext} , and (B) substrate flux distribution for electricity and methane production. P_{max} and R_{int} were estimated in polarization tests (Fig. 3-2) performed at each organic load. Substrate fluxes were estimated based on a methane yield of $0.35 \text{ L g-COD}^{-1}$ and an electron yield of $n=24$ for glucose. All tests were carried out at pH 7 (OLR: organic load rate)

Test	OLR $\text{g L}_A^{-1} \text{d}^{-1}$	pH	anodic liquid temp, $^{\circ}\text{C}$	$P_{200\Omega}$ W m^{-3}	CE_A %	CH_4 prod. $\text{L (L}_A \text{d})^{-1}$	CH_4 yield L g-COD^{-1}	COD removal, %
glucose	0,19	7	25	2,7	42,1	0,01	0,06	92,7
	0,47			4,8	23,1	0,02	0,06	89,7
	0,93			7,9	15,3	0,11	0,13	87,1
	1,86			7,8	7,0	0,26	0,16	87,9
	3,72			8,2	4,1	0,49	0,16	82,3
	7,44			6,6	2,0	0,66	0,12	74,3
pH	1,86	6,5	25	9,8	8,1	0,15	0,09	91,2
		6,25		9,6	8,6	0,10	0,06	85,3
		6		8,8	9,1	0,12	0,09	77,2
		5,5		2,2	5,2	0,002	0,002	67,6
temp.	3,72	6,25	25	9,4	4,7	0,16	0,06	76,6
			32	9,8	4,8	0,5	0,17	77,7
			36	10,4	5,2	0,19	0,07	74,0

Table 3.1: Operational conditions and MFC-1 performance observed in glucose, pH, and temperature tests. The MFC was operated at $R_{ext} = 200 \Omega$

3.4.2 Acetate tests

Based on the results of glucose tests in MFC-1, MFC design was refined by decreasing the distance between the electrodes and, consequently, reducing the anodic chamber volume to 50 mL. The modified MFC (MFC-2) was fed with acetate to confirm the impact of acetate concentration on electricity production. After the homogenized anaerobic sludge was added to the anodic chamber, the startup was carried out at an acetate load of $4 \text{ g L}_A^{-1} \text{ day}^{-1}$. As in the previous test, a gradual increase of the output voltage was observed. At a steady state, the concentration of acetate in the anodic chamber was $171,83 \pm 9,92 \text{ mg L}^{-1}$ and the biogas production was at $0,2\text{-}0,3 \text{ L L}_A^{-1} \text{ day}^{-1}$.

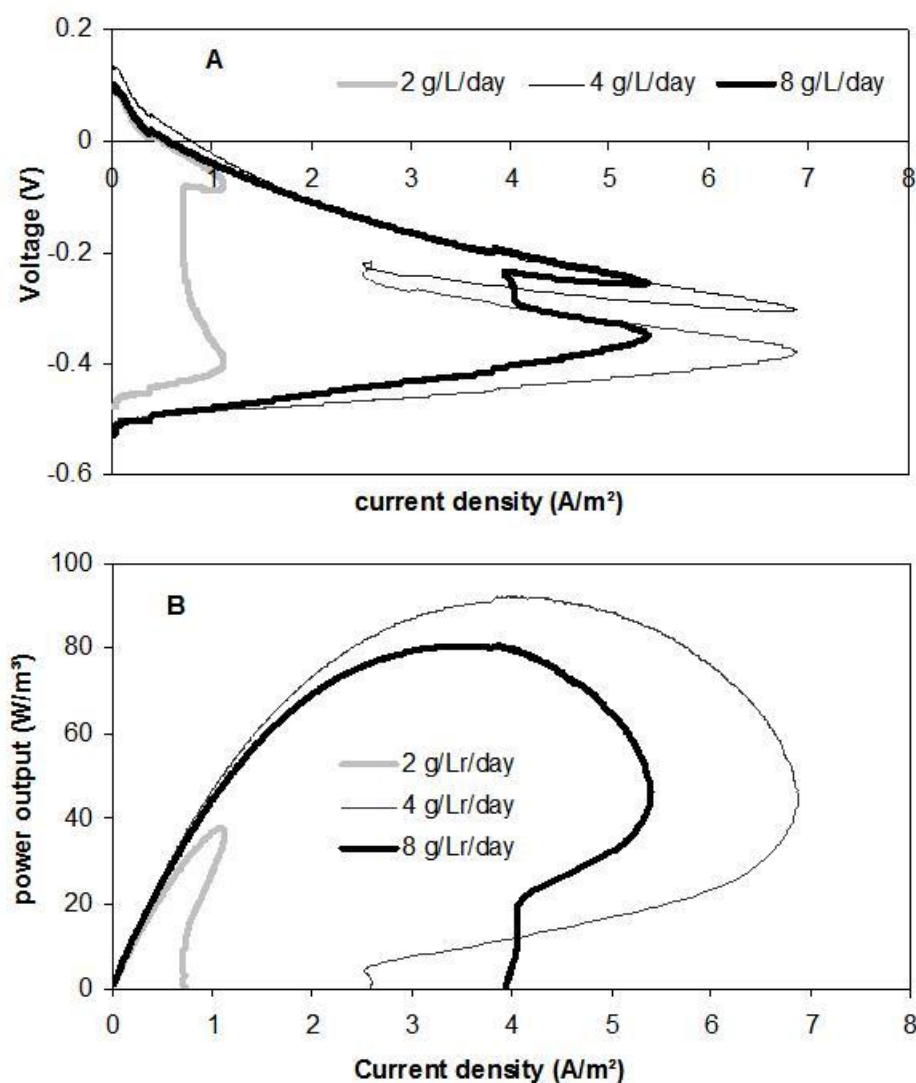


Figure 3-4: Polarization (A) and power (B) curves obtained in MFC-2 at different organic loads of acetate. Electrode potentials were acquired against an Ag/AgCl reference electrode using a potentiostat

MFC-2 performance was evaluated at acetate loads of 2, 4, and 8 g L_A⁻¹ day⁻¹ (Table 3.2). No pH adjustment was required during the tests. After each load change, stable power generation was observed within 48 h. Nevertheless a 4-day period was allowed before each polarization test. Maximal power output and total internal resistance were estimated at each acetate load by conducting polarization tests where anode and cathode potentials were measured against an Ag/AgCl reference electrode (Fig. 3-4A). Power output increased when the acetate load was

changed from 2 to 4 g L_A⁻¹ day⁻¹. As in the glucose tests, further increase to 8 g L_A⁻¹ day⁻¹ resulted in a lower power output (Fig. 3-4B). In agreement with this trend, total anode resistance (R_A) and the total cathode resistance (R_C), as estimated from the polarization tests, were the highest at the lowest acetate load and the smallest at an acetate load of 4 g L_A⁻¹ day⁻¹ (Table 3.2). At 8 g L_A⁻¹ day⁻¹, R_A and R_C were higher than at a load of 4 g L_A⁻¹ day⁻¹.

Overall, volumetric power output obtained in MFC-2 was significantly higher than in MFC-1 because of carbon source differences but also because the anodic chamber volume in MFC-2 was two times smaller than in MFC-1, while the anode size remained the same. As in the glucose test, a combination of anodophilic and methanogenic activities provided close to 100% COD removal efficiency at acetate loads of 2 and 4 g L_A⁻¹ day⁻¹. At the highest acetate load, COD removal efficiency declined to 53 % and Coulombic efficiency decreased to 28% (Table 3.2). The trend in biogas production followed the acetate load, however no quantitative estimations of methane production were obtained since methane concentration measurements were affected by the polarization tests. For these tests a reference electrode was inserted into the anodic chamber, which introduced oxygen and nitrogen and altered methane measurements.

Table 3.2: Dependence of MFC-2 performance on acetate load and acetate concentration in the anodic chamber. MFC was operated at R_{ext}= 35 Ω

acetate load (g L _A ⁻¹ day ⁻¹)	acetate concentration (mg L ⁻¹)	CE _A (%)	power output (W m ⁻³)	COD removal (%)	polarization test			
					P _{max} (W m ⁻³)	R _{int} (Ω)	R _{cathode} (Ω)	R _{anode} (Ω)
2	18 ± 2	60,5	52,4	98,1	37,8	30,5	20,8	9,3
4	172 ± 10	32,9	53,3	90,9	92,4	11,3	7,4	3,0
8	1777 ± 131	27,5	50,6	52,9	80,8	15,0	9,3	5,2

3.4.3 pH-stat tests

The effect of pH on electricity generation and methane production was studied in a glucose-fed MFC (MFC-1) by maintaining several pre-set pH values ranging from 5,5 to 7,0 (Table 3.1). To avoid substrate limitation, these tests were conducted at a glucose load of 1,9 g L_A⁻¹ d⁻¹. P_{max} and R_{int} values were estimated from polarization tests carried out at different operational pHs (Fig. 3-

5A). Maximum MFC performance was achieved at pH 6,25 with a corresponding P_{\max} value of $15,8 \text{ W m}^{-3}$. A similar performance was observed at pH 6,5, suggesting the optimal pH to be between 6,25 and 6,5. In agreement with polarization tests, power output at $R_{\text{ext}}=200 \Omega$, which was routinely used throughout MFC operation, increased from $7,8 \text{ W m}^{-3}$ at pH=7 to $9,8 \text{ W m}^{-3}$ at pH=6,5 (Table 3.1). Also, R_{int} decreased to 51Ω , at a pH of 6,25. However, a pH of 5,5 caused a sharp increase in R_{int} and a drop in electricity production. As expected, at pH values below 6,6 methane production declined (Table 3.1), while VFA concentrations in the effluent increased.

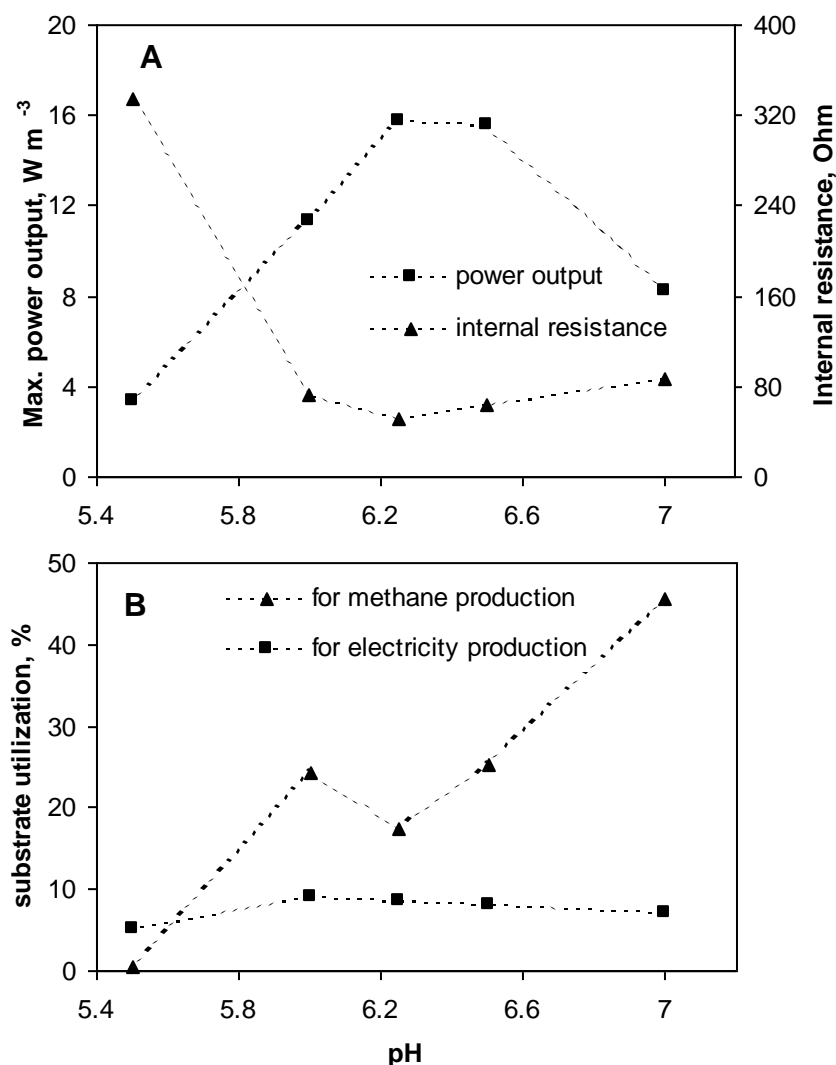


Figure 3-5: The effect of pH on (A) cell internal resistance, power generation at optimal R_{ext} , and (B) substrate flux distribution for electricity and methane production. All tests were carried out in MFC-1 at a glucose load of $1,9 \text{ g L}_A^{-1} \text{ day}^{-1}$

COD removal varied from 85 to 91% at pHs of 6,25-7,0. At pH 5,5, the removal efficiency dropped to 67% and both electricity generation and methane production declined. CE_A value of 8,6% was calculated at pH 6,25, but at pH = 5,5 it decreased to 5,2%. As mentioned above, these CE_A values were obtained at a R_{ext} of 200 Ω . An optimal resistance of 51 Ω was estimated from the polarization test corresponding to an apparent Coulombic efficiency of over 22%.

3.4.4 Temperature tests

The impact of temperature on MFC performance was studied in MFC-1 at a glucose load of 3,7 g $L_A^{-1} day^{-1}$ and a pH setpoint of 6,25. In the first test MFC was operated at a setpoint of 25°C using the thermocouple located in the anodic liquid between the electrodes and the heater installed on the anode side (Fig. 3-1). Because of this configuration, the temperature measured by the thermocouple placed inside the anode was 27°C, while at the cathode it was 23°C (Table 3.3). In the next test the anode thermocouple was used for temperature control and the temperature setpoint was increased to 38°C. Again, the heater installed on the anode side was used. Since, the cathode electrode was exposed to room temperature, a significant temperature difference was observed (Table 3.3). A higher anode temperature resulted in an increase in both electricity and methane production. A polarization test yielded $R_{int}=38 \Omega$ and $P_{max}=18,3 W m^{-3}$, as compared to 16,2 $W m^{-3}$ at a setpoint of 25°C. Also, MFC operation at $R_{ext}=200 \Omega$ and an anode temperature of 38°C resulted in $P=9,8 W m^{-3}$, which corresponded to a 4% increase as compared to 27°C. At the same time, methane production increased from 0,16 to 0,5 $L L_A^{-1} day^{-1}$.

In the third test, the anodic chamber was heated via a heating plate installed on the outside of the cathode electrode as shown in Fig. 3-1. Consequently, the cathode surface facing the heater plate reached a temperature of 62°C. Because of heat losses in the anodic chamber and the external recirculation loop, the temperature of the anodic liquid was significantly lower, 36°C, and the temperature of the anode electrode itself was even lower, 30°C. Under these conditions values of $R_{int}=39 \Omega$ and $P_{max}=19,2 W m^{-3}$ were estimated from the polarization test. Here, the methane production was at 0,19 $L L_A^{-1} day^{-1}$ (Table 3.1 and 3.3).

Table 3.3: MFC-1 performance during temperature tests. The underlined values indicate temperature set points and the thermocouple used for temperature control

Heater position	T anode °C	T liquid °C	T cathode °C	P _{max} W m ⁻³	R _{int} Ω
Anode side	27	<u>25</u>	24	16,2	45
	<u>38</u>	32	28	18,3	38
Cathode side	30	36	<u>62</u>	19,2	39

3.5 Discussion

The anodophilic microorganisms are capable of utilizing several carbon sources, including glucose, hydrogen, acetate, and other VFAs [1-7]. However, based on the analysis of metabolic products in MFC-1, it appeared that in the glucose fed MFC acetate was the main source of carbon for the anodophilic microorganisms. The activity of acetogenic microorganisms was inferred by the presence of acetate and low concentration of propionate in the anodic liquid. In this MFC acidogenic microorganisms from anaerobic sludge used to seed the cell provided fast glucose transformation to VFAs. Finally, methane production demonstrated the presence of methanogenic microorganisms in the anodic chamber.

The amounts of glucose used for methane production and electricity generation in MFC-1 were estimated using theoretical yields of 63 L-CH₄ mol⁻¹ and n=24 e mol⁻¹, respectively. This approach did not take into account the amount of carbon source consumed for biomass growth and cell maintenance, as well as potential substrate losses to aerobic metabolism due to oxygen diffusion through the cathode. Analysis of calculated substrate fluxes presented in Fig. 3-3B suggests that at low glucose loads less glucose was used for methane production. Consequently, CE_A was 42% (Table 3.1). With increasing glucose loads the part of substrate consumed by the methanogens substantially increased, such that at the highest organic load 34% of the substrate was used for methane production and only 2% was used for electricity generation.

MFC-1 operation at several glucose loads allowed for a comparison of apparent kinetics of the anodophilic and methanogenic microorganisms. Clearly, glucose load affected electrical characteristics of the cell, as can be seen from the results presented in Fig. 3-3A. A decreased internal resistance at higher glucose loads can be explained by increased ionic strength of the

anodic liquid resulting from higher VFA concentrations, but also by increased catalytic activity and density of the anodophilic microorganisms. This agrees with the known dependence of fuel cell internal resistance on the catalyst load [26] and with the results obtained by Manohar and Mansfeld [27] in a MFC. However, power output was observed to decline at the highest glucose load, i.e. at the highest concentration of carbon source in the anodic liquid (Fig. 3-6A). This finding was confirmed by operating MFC-2 with acetate as a sole source of carbon. As in the glucose test, an increase in power output with increasing acetate load was followed by a power output decrease at the highest acetate load and, accordingly, at the highest acetate concentration (Fig. 3-6B). This dependence of power production (P) on carbon source concentration (S) can be described by the Andrews kinetics model:

$$P = \frac{p_m S}{k_{p,s} + S + S^2/k_{p,I}} \quad (3.3)$$

where p_m is the maximal volumetric power production (W m^{-3}), S is the bulk substrate concentration (mg L^{-1}), $k_{p,s}$ and $k_{p,I}$ are the half saturation and inhibition constants (mg L^{-1}), respectively.

At the same time, volumetric methane production rate (r_{CH_4}) increased with increasing organic load and corresponding increase of substrate concentration approaching a plateau at acetate concentrations above 1000 mg L^{-1} . During the carbon source tests the pH control loop was used to maintain the anodic chamber pH at 7. Thus, even at acetate concentrations above 1000 mg L^{-1} the inhibition of the methanogenic activity by the undissociated acetic acid was avoided and a Monod-like expression was used:

$$r_{\text{CH}_4} = \frac{r_m S}{(k_{m,s} + S)} \quad (3.4)$$

where r_m is the maximum volumetric rate of methane production ($\text{L}_{\text{CH}_4} \text{ L}_A^{-1} \text{ day}^{-1}$) and $k_{m,s}$ is the half saturation constant of methanogenesis (mg L^{-1}).

Parameters in Eqs. (3) and (4) were calculated by minimizing the difference between calculated and measured values of P and r_{CH_4} by a zero-order numerical minimization procedure in Matlab (Mathworks Inc, Natick, MA, USA). The following parameters were estimated for power production in MFC-1: $p_m = 20,5 \text{ mW m}^{-3}$, $k_{p,s} = 66,5 \text{ mg L}^{-1}$, $k_{p,I} = 625,3 \text{ mg L}^{-1}$ ($R^2=0,89$). For

methane production in MFC-1 a maximal volumetric production rate $r_m = 0,98 \text{ L}_{\text{CH}_4} \text{ L}_{\text{A}}^{-1} \text{ day}^{-1}$ and a half-saturation coefficient $k_{m,S}$ of $364,7 \text{ mg L}^{-1}$ ($R^2 = 0,99$) were estimated. Because of a smaller size of the anodic chamber, a shorter distance between the electrodes, and the absence of VFAs other than acetate in MFC-2, the estimated values were different for the acetate test ($p_m = 139 \text{ mW m}^{-3}$; $k_{p,I} = 2616 \text{ mg L}^{-1}$; $k_{p,S}$ was unchanged), but the same trend was observed (Fig. 3-6B).

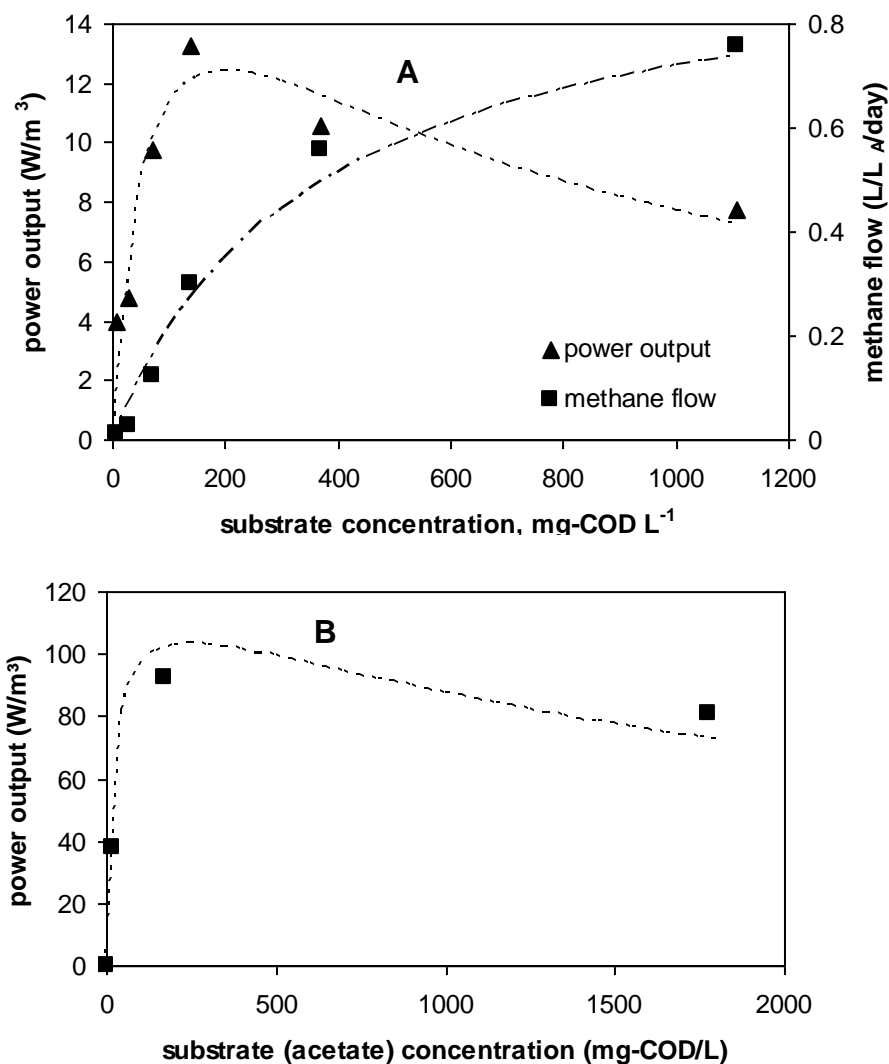


Figure 3-6: Approximation of power and methane production rates observed in the glucose fed MFC-1 (A), and acetate-fed MFC-2 (B) by Andrews (power output) and Monod (methane production) dependencies. Power outputs obtained in polarization tests at $R_{\text{ext}}=R_{\text{int}}$ were used for the approximation

A comparison of apparent half-saturation constants suggested that anodophilic microorganisms had a higher affinity for acetate implying their competitiveness with methanogens at low substrate concentrations in the liquid, i.e. at low organic loads. This conclusion agrees with the estimation of carbon source fluxes at different glucose loads (Fig. 3-3B), which showed that the part of substrate consumed by anodophilic microorganisms increased with decreasing organic load. Therefore, methane production can be restricted by maintaining low bulk substrate concentration in the anodic chamber, for instance by controlling influent flow rate.

The observed link between the organic loads and estimated values of R_{int} (Fig. 3-3A) can be attributed to ionic strength variations due to changing VFA levels, however a link with metabolic activity and density of anodophilic microorganisms can not be excluded. At low substrate concentrations CE_A was improved because less substrate was used for methane production, although MFC internal resistance was higher. Thus, a better electron recovery does not necessarily lead to better MFC performance. Although the observed values of CE_A were relatively low, they were in line with other tests conducted with glucose as a source of carbon, e.g. a Coulombic efficiency of 14% was obtained by Min and Logan [3].

Analysis of kinetic curves in Fig. 3-6 showed that the ratio of electricity-to-methane production can be controlled by organic load and that simultaneous power generation and methane production can be accomplished under carbon source non-limiting conditions, i.e. in a range of 150-400 mg-COD L⁻¹. This approach for maximizing COD removal efficiency and combining methane and power production in a MFC has been already suggested by Clauwaert *et al* [28].

In addition to organic load, the electricity-to-methane production ratio can be controlled by the anodic chamber pH. Most often MFC tests are conducted without pH control, or at a neutral pH, which is considered to be optimal for electricity generation [19], although MFC operation under acidophilic conditions has been demonstrated [29]. In MFC-1 at pH values below 6,6 methanogenesis decreased significantly, thus leaving more substrate for electricity production. As a result, power output was increased at a pH of 6,25. At pH values below 6,2, both methanogenic and anodophilic populations were inhibited leading to a drop in the overall MFC performance (Fig. 3-4). Calculations of substrate fluxes corroborated with this conclusion suggesting that the use of substrate for methane production was minimal at around pH 6,25 (Fig. 3-5B), which corresponded to maximal power production. This conclusion is different from the results of the

pH optimization tests obtained in MFCs with a proton exchange membrane [19, 22] or operated in a fed-batch mode [21, 23] where the best performance was observed at pH 7 or higher. The use of a proton exchange membrane might lead to the existence of significant pH gradients between the electrodes, while fed-batch MFC operation results in pH variations within each cycle.

Temperature is yet another operational parameter that can be used to control growth and metabolism of microbial populations in MFC. Overall, methane production was more temperature-sensitive than power generation. An anode temperature increase from 27°C to 38°C increased methane production 3 times (from 0,16 to 0,5 L L_A⁻¹ day⁻¹). At the same time, power production only increased by 12% (P_{\max} increase from 16,2 to 18,2 W m⁻³). Cathode heating appeared to have a more significant impact on power production. When the cathode was heated to 62°C while maintaining the anode temperature at 30°C, the power output increased by 18% (19,2 W m⁻³, Table 3.1). This suggested significant charge transfer limitation at the cathode. Apparently, cathode heating increased catalytic activity [30], while the effect on anodophilic populations was less pronounced.

Overall, the heating may be useful if performed in the vicinity of the cathode so as to increase cathodic kinetics without excessively increasing activity of methanogenic populations in the anodic chamber. Temperatures of 20-35°C are often used in anaerobic wastewater treatment, which requires reactor heating. Similarly, MFC might be heated to at least maintain a mesophilic range of temperatures and this heating can be accomplished by a heater installed in proximity to the cathode.

Throughout the tests, the MFC-1 was routinely operated at an external load of $R_{\text{ext}}=200 \Omega$. Meanwhile, polarization data showed internal resistance in a range of 70-80 Ω . Since power output is maximized when $R_{\text{ext}}=R_{\text{int}}$, MFC-1 operation at an optimal or close to optimal external load would increase power output. This was demonstrated during MFC-2 operation, which was carried out at R_{ext} values close to R_{int} estimations resulting in increased power output. However, a cautious approach should be taken as to avoid MFC operation at external resistances below the internal resistance value as this results in the abrupt performance decline. In this regard, an on-line control of electric load must be considered in order to maximize MFC power output at varying operating conditions [31, 32].

3.6 Conclusion

This study demonstrated the influence of operating parameters on the performance of a continuous flow MFC with a mixed microbial population. Electricity generation and methane production were influenced by carbon source load, pH, and temperature suggesting that power output can be maximized by controlling these parameters. Power production was best described by an Andrews-like dependence on bulk substrate concentration, while a Monod-like dependence best described methane production. Overall, this study demonstrated that the proliferation of methanogenic populations can be avoided and that the electricity-to-methane production ratio can be successfully shifted towards electricity production if operational conditions are optimized.

3.7 Acknowledgments

Funding for this study was provided by NSERC and NRC Canada (NRC publication no 53326). Assistance of Michelle-France Manuel in MFC setup is greatly appreciated.

3.8 References

- [1] Catal, T., Li, K., Bermek, H., Liu, H., Electricity production from twelve monosaccharides using microbial fuel cells. *J. Power Sources* 2008, 175, 196-200.
- [2] He, Z., Minteer, S. D., Angenent, L. T., Electricity generation from artificial wastewater using an upflow microbial fuel cell. *Env. Sci. Technol.* 2005, 39, 5262-5267.
- [3] Min, B., Logan, B. E., Continuous electricity generation from domestic wastewater and organic substrates in a flat plate microbial fuel cell. *Environ. Sci. Technol.* 2004, 38, 5809-5814.
- [4] Rabaey, K., Ossieur, W., Verhaege, M., Verstraete, W., Continuous microbial fuel cells convert carbohydrates to electricity. *Wat. Sci. Technol.* 2005, 52, 515-523.
- [5] Rismani-Yazdi, H., Christy, A. D., Dehority, B. A., Morrison, M., et al., Electricity generation from cellulose by rumen microorganisms in microbial fuel cells. *Biotechnol. Bioeng.* 2007, 97, 1398-1407.
- [6] Liu, H., Cheng, S., Logan, B. E., Production of electricity from acetate or butyrate using a single-chamber microbial fuel cell. *Environ. Sci. Technol.* 2005, 39, 658-662.

- [7] Bond, D. R., Lovley, D. R., Electricity production by *Geobacter sulfurreducens* attached to electrodes. *Appl. Env. Microbiol.* 2003, 69, 1548-1555.
- [8] Rabaey, K., Boon, N., Siciliano, S., Verhaege, M., Verstraete, W., Biofuel cells select for microbial consortia that self-mediate electron transfer. *Appl. Env. Microbiol.* 2004, 70, 5373-5382.
- [9] Reguera, G., McCarthy, K. D., Mehta, T., Nicoll, J. S., et al., Extracellular electron transfer via microbial nanowires. *Nature Biotechnol.* 2005, 23, 1098-1101.
- [10] Schroder, U., Anodic electron transfer mechanisms in microbial fuel cells and their energy efficiency. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2007, 9, 2619-2629.
- [11] Tartakovsky, B., Guiot, S. R., A Comparison of air and hydrogen peroxide oxygenated microbial fuel cell reactors. *Biotechnol. Prog.* 2006, 22, 241 -246.
- [12] Liu, Z.-D., Li, H.-R., Effects of bio- and abio-factors on electricity production in a mediatorless microbial fuel cell *Biochem. Eng. J.* 2007, 36, 209-214
- [13] Fan, Y., Hu, H., Liu, H., Enhanced Coulombic efficiency and power density of air-cathode microbial fuel cells with an improved cell configuration. *J. Power Sources* 2007, 171, 348-354.
- [14] Lowy, D. A., Tender, L. M., Zeikus, J. G., Park, D. H., Lovley, D. R., Harvesting energy from the marine sediment-water interface. II Kinetic activity of anode materials. *Biosensors and Bioelectronics* 2006, 21, 2058-2063.
- [15] Lee, H.-S., Parameswaran, P., Kato-Marcus, A., Torres, C. I., Rittmann, B. E., Evaluation of energy-conversion efficiencies in microbial fuel cells (MFCs) utilizing fermentable and non-fermentable substrates. *Wat. Res.* 2008, 42, 1501-1510.
- [16] Picioreanu, C., Head, I. M., Katuri, K. P., van Loosdrecht, M. C. M., Scott, K., A computational model for biofilm-based microbial fuel cells. *Wat. Res.* 2007, 41, 2921-2940.
- [17] Aelterman, P., Versichele, M., Marzorati, M., Boon, N., Verstraete, W., Loading rate and external resistance control the electricity generation of microbial fuel cells with different three-dimensional anodes. *Biores. Technol.* 2008, 99, 8895-8902.

- [18] Ishii, S., Hotta, Y., K., W., Methanogenesis versus electrogenesis: Morphological and phylogenetic comparisons of microbial communities. *Bioscience Biotechnol. Biochem.* 2008, 72, 286-294.
- [19] Gil, G.-G., Chang, I.-S., Kim, B. H., Kim, M., et al., Operational parameters affecting the performance of a mediator-less microbial fuel cell. *Biosensors and Bioelectronics* 2003, 18, 327-334.
- [20] Moon, H., Chang, I. S., Jang, J. K., Kim, B. H., Residence time distribution in microbial fuel cell and its influence on COD removal with electricity generation. *Biochem. Eng. J.* 2005, 27, 59-65.
- [21] He, Z., Huang, Y., Manohar, A. K., Mansfeld, F., Effect of electrolyte pH on the rate of the anodic and cathodic reactions in an air-cathode microbial fuel cell. *Bioelectrochem.* 2008, 74, 78-82.
- [22] Jadhav, G. S., Ghangrekar, M. M., Performance of microbial fuel cell subjected to variation in pH, temperature, external load and substrate concentration. *Bioresource Technol.* 2009, 100, 717-723.
- [23] Chae, K. J., Choi, M. J., Kim, K. Y., Ajayi, F. F., et al., Selective inhibition of methanogens for the improvement of biohydrogen production in microbial electrolysis cells. *Int. J. Hydrogen Energy* 2010, in press.
- [24] Liu, H., Cheng, S., Logan, B., Power generation in fed-batch microbial fuel cells as a function of ionic strength, temperature, and reactor configuration. *Env. Sci. Technol.* 2005, 39, 5488-5493.
- [25] Liu, H., Logan, B. E., Electricity generation using an air-cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane. *Environ. Sci. Technol.* 2004, 38, 4040-4046.
- [26] Chaparro, A. M., Gallardo, B., Folgado, M. A., Martín, A. J., Daza, L., PEMFC electrode preparation by electrospray: Optimization of catalyst load and ionomer content *Catalysis Today* 2009, 143, 237-241.
- [27] Manohar, A. K., Mansfeld, F., The internal resistance of a microbial fuel cell and its dependence on cell design and operating conditions. *Electrochim. Acta* 2009, 54, 1664-1670.

- [28] Clauwaert, P., Verstraete, W., Methanogenesis in membraneless microbial electrolysis cells. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2008, 82, 829-836.
- [29] Mohan, S. V., Mohanakrishna, G., Reddy, B. P., Saravanan, R., Sarma, P. N., Bioelectricity generation from chemical wastewater treatment in mediatorless (anode) microbial fuel cell (MFC) using selectively enriched hydrogen producing mixed culture under acidophilic microenvironment. *Biochem. Eng. J.* 2008, 39, 121-130.
- [30] O'Hayre, R., Cha, S. W., Colella, W., Prinz, F. B., Fuel cell reaction kinetics, Fuel cell fundamentals, John Wiley & Sons Inc 2006, p. 409.
- [31] Woodward, L., Perrier, M., Srinivasan, B., Pinto, R. P., Tartakovsky, B., Comparison of real-time methods for maximizing power output in microbial fuel cells. *AIChE J.* 2010, in press.
- [32] Woodward, L., Tartakovsky, B., Perrier, M., Srinivasan, B., Maximizing power production in a stack of microbial fuel cells using multiunit optimization method. *Biotechnol. Prog.* 2009, 25, 676-682.

CHAPITRE 4 ELECTROCHEMICAL CHARACTERIZATION OF ANODIC BIOFILM GROWTH IN A MICROBIAL FUEL CELL

Article soumis à *Journal of Power Sources* en novembre 2010

Auteurs : Edith Martin, Oumarou Savadogo, Serge R. Guiot et Boris Tartakovsky

4.1 Abstract

In this study, electrochemical methods such as electrochemical impedance spectroscopy, cyclic voltammetry, and polarization tests were used to monitor the progress of the anode colonization by electrode-reducing microorganisms in a single-chamber membraneless MFC seeded with anaerobic sludge. The electrochemical methods showed that an increase in MFC power output coincided with a progressive decrease of the anode internal resistance and its open circuit potential. Two redox systems were observed in cyclic voltammograms shortly after MFC startup, while a redox system with a peak around -330 mV (vs Ag/AgCl) was predominant in the mature biofilm. The redox systems were also dependent on the external resistance chosen for MFC operation. This suggests that within the diverse microbial populations several species are capable of electron transfer to the anode, and that the microorganisms with the highest electron transfer rate become predominant. Furthermore, the growth of these electrode-reducing microorganisms can be accelerated by optimizing the MFC electric load.

Keywords : MFC; anodic biofilm; cyclic voltammetry; EIS; internal resistance

4.2 Introduction

Electricity production in microbial fuel cells (MFCs) relies on microorganisms transferring electrons to the anode through a conductive biofilm matrix, by direct contact with the electrode or by self-produced mediators [1-3]. Upon MFC inoculation the anode-reducing microorganisms colonize the anode surface forming a biofilm [4, 5]. The rate of biofilm formation and its composition in a MFC seeded with a mixed microbial population depends on a number of factors including operating conditions such as organic load and external resistance [6]. A better understanding of how the anodophilic biofilm is formed can be achieved by using electrochemical techniques such as polarization tests (PTs), cyclic voltammetry (CV) and electrochemical impedance spectroscopy (EIS) [7-9].

PTs are used by almost every MFC study [6, 10-13] since it provides a simple and convenient tool for comparison between various MFC designs and operating conditions. Polarization and power curves obtained in a PT can be used to estimate open circuit voltage (OCV), total internal resistance, and maximal power output of a MFC [14]. Electrode potential measurements against a reference electrode during a PT can be used to estimate anode and cathode resistance. However, resistance estimations obtained using the PT technique are affected by experimental conditions, which determine diffusion and charge transfer limitations at the electrodes [15].

EIS is considered as a more accurate method for analyzing bio-electrochemical reactions on electrodes, estimating electrode properties, and conducting mass transfer studies [7]. Several studies have used EIS to study MFC internal resistance, material influence, biofilm development, the effect of mediators and bacteria immobilization on electrodes [7, 9, 11, 16-19] .

The CV technique has been used in several MFC studies [19-23] for research on bacterial redox behaviour and for electrochemical activity characterization of pure cultures and microbial consortia. By varying the electrode potential (E) at various scan rates and monitoring the resulting current, CV provides information about charge transfer at the biofilm – anode interface [8].

In this study the development of the anodic biofilm was observed using a combination of MFC performance monitoring, PT, EIS, CV techniques, and measurements of protein content of the anode.

4.3 Materials and methods

4.3.1 MFC design and operation

Five single-chamber membraneless air-cathode MFCs were operated for time periods ranging from 1 to 3 months. MFCs were assembled using polycarbonate plates and with a 50 mL anodic chamber (10 cm x 5 cm x 1 cm). A detailed description of the MFC design can be found in Martin et al [12]. Anodes were made of 5 cm x 10 cm carbon felt with a thickness of 5 mm (Speer Canada, Kitchener, ON, Canada). Cathodes were made of carbon cloth gas diffusion electrodes with a Pt loading of 0.5 mg cm^{-2} (E-TEK Division, PEMEAS Fuel Cell Technologies, Somerset, NJ, USA). The electrodes were separated with a J-cloth[®] so that the distance between

them was approximately 1 mm. MFC voltage was measured using a data acquisition card (LabJack U12, LabJack Corp., Colorado, USA).

MFCs were operated in a continuous flow mode with a hydraulic retention time of 12 h. External recirculation lines with peristaltic pumps were used for anodic liquid mixing. Stock solutions of sodium acetate and nutrients were fed at a rate of 5 mL d⁻¹ by a syringe pump (model NE-1000, New Era Pump Systems, Inc., Wantagh, NY, USA). Acetate stock solutions were combined with dilution water streams containing 1 mL of the stock solution of microelements per liter. MFCs were operated at room temperature (22 - 24°C) with no pH adjustment, which remained close to pH 7.

All MFCs were started using a 400 Ω external resistance (R_{ext}). In the second phase of the experiment, R_{ext} of MFC1, MFC2, and MFC5 were step-wise decreased every 2-5 days to 100 Ω , 50 Ω , 30 Ω and then to 15 Ω (fast R_{ext} adjustment) to rapidly approach the estimated values of R_{int} . Then these MFCs were operated at $R_{ext} \sim R_{int}$. R_{ext} of MFC3 and MFC4 were decreased every 7-20 days (slow R_{ext} change) so that more than two months were required to approach R_{int} values. Consequently, these MFCs were operated at $R_{ext} \gg R_{int}$. Electrochemical measurements were carried out before each change of R_{ext} .

4.3.2 Inoculum, media composition and analytical methods

The anodic compartments of the MFCs were inoculated with homogenized anaerobic mesophilic sludge with a volatile suspended solids content of 45-55 g L⁻¹ (A. Lassonde Inc., Rougemont, QC, Canada). The stock solution of acetate and nutrients contained (in g L⁻¹): anhydrous sodium acetate (54,67), yeast extract (0,83), NH₄Cl (18,68), KCl (148,09), K₂HPO₄ (64,04), KH₂PO₄ (40,69). Acetate concentration in effluent was measured by gas chromatography (GC) using an Agilent 6890 (Wilmington, DE) with a detection limit of 0,2 mg L⁻¹. More details are provided in [24].

4.3.3 Protein measurements

To measure protein concentration 1 cm x 1 cm pieces of carbon felt were taken from MFC5 anode on days 4, 8, 11, 16 and 19 after inoculation and were put into 2 mL tubes with 500 mg of 0,1 and 0,5 mm glass beads (zirconia/silica beads, Biospec Products, Inc., Bartlesville, OK, USA). The tubes were then filled with distilled water, vortexed to mix the beads and anode

pieces, and then bead-beaten twice for 15 seconds using FastPrep[®] system (Bio 101 Savant, Bio/Can Scientific, Mississauga, Ontario, Canada). Subsequently, the samples were centrifuged, and the supernatant was collected and concentrated in a DNA concentrator (Savant DNA120 SpeedVac[®] concentrator, Thermo Fisher Scientific, Asheville, NC). The samples were then analyzed using the Bio-Rad protein assay protocol (Bio-Rad Laboratories Ltd., Mississauga, Ontario, Canada).

4.3.4 Electrochemical measurements

The testing procedure consisted of EIS measurements at working anodic potential (V_{app}), followed by open-circuit monitoring for one hour before carrying out cyclic voltammetry at various scan rates. The MFCs were then left in open-circuit mode again for one hour before performing polarization tests.

EIS was carried out using a frequency response analyzer (FRA) (Model 1260A, Solartron Analytical, Hampshire, UK) connected to a potentiostat (Solartron 1470, Solartron Analytical, Hampshire, UK). ZPlot and ZView software (Solartron Analytical, Hampshire, UK) were used for instruments control and data analysis, respectively. The experiments were done in a three-electrode mode using an Ag/AgCl reference electrode (1M KCl, 222 mV vs NHE), the anode as a working electrode and the cathode as a counter electrode. The measurements were performed at the anode working potential while MFCs were operated at constant external resistance (R_{ext}). EIS tests were performed at an AC signal amplitude of 5 mV, at 37 logarithmic frequency steps between 100 kHz and 5 mHz. The test duration was approximately 30 minutes.

Acquired EIS spectra were described using a two time-constant model shown in Fig. 4-1, where R_s is the solution resistance, R^{oth} is the resistance of a secondary redox process, CPE^{oth} is its constant phase element, R_A^{ct} is the anodic charge transfer resistance for substrate oxidation, and CPE^{ct} is the constant phase element related to charge transfer. Constant phase elements are used instead of standard capacitances in this model because of inhomogeneous conditions (roughness, porosity, distribution of reaction sites) [25]. Fitting both semi-circles with a CPE is used to determine the surface capacitance value and the influence of the diffusion and electrode structure.

CV was performed using a potentiostat (273A, Princeton Applied Research, Tennessee, USA). The anode and cathode were used as working and counter electrodes respectively. A 1M

Ag/AgCl reference electrode was also used. Voltammetry was carried out at scan rates between 5 and 300 mV s⁻¹ and at amplitudes between -0,9 and 0,4V (vs Ag/AgCl). CorrWare and CorrView software (Solartron Analytical, Hampshire, UK) were used for potentiostat control and data analysis respectively.

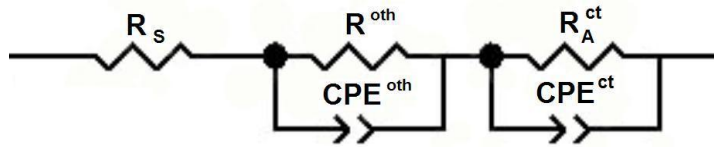


Figure 4-1: A two time-constant model

Polarization tests were carried out using a potentiostat (273A, Princeton Applied Research, Tennessee, USA), which controlled the cell voltage (E_{MFC}) while measuring the generated current (I). The tests were performed starting from OCV to short-circuit voltage at a scan rate of 0,5 mV s⁻¹. The MFC anode (carbon felt) was employed as a working electrode and the MFC cathode was used as a counter and reference electrode. Also, electrode potentials were measured against Ag/AgCl reference electrodes using a data acquisition card (LabJack U12, LabJack Corporation, Colorado, USA). The measurements were used to evaluate MFC internal resistance (R_{int}) and maximum power output (P_{max}). Anode and cathode potentials were also plotted against current to estimate anode and cathode resistances (R_A and R_C , respectively) from the linear parts of the curves.

Apparent Coulombic efficiency (CE_A) was calculated using measured current and the amount of acetate consumed in the MFC. This calculation does not account for the amount of acetate consumed by acetoclastic methanogens [12]. The removal efficiency (E_{COD}) was evaluated by calculating the chemical oxygen demand (COD) removal according to the following equation:

$$E_{COD} = \frac{M_{in} - M_{out}}{M_{in}} \times 100\% = \frac{(F_{in} \cdot C_{stock}) - (F_{out} \cdot C_{out})}{(F_{in} \cdot C_{stock})} \times 100\% \quad (1)$$

where F_{in} and F_{out} are respectively the stock solution and the effluent flow rates (L s⁻¹), and C_{stock} and C_{out} are acetate concentration in stock solution and acetate concentration in effluent (g L⁻¹).

4.4 Results and discussion

The evolution of internal resistances (R_{int} , R_A , R_C), OCV, and maximal power outputs (P_{max}) over time was observed through polarization tests. During the first 5 - 7 days of operation the output

voltage remained below 50 mV for all MFCs. Nevertheless, in all MFCs the polarization tests revealed a progressive increase of OCV to 530-600 mV and decrease of R_{int} from more than 2500 Ω at start up to 450-500 Ω after the first 11 days. Estimations of R_A using electrode potential measurements against the Ag/AgCl reference electrode suggested that these changes were due to the proliferation of anode-reducing microorganisms at the anodes, as the anode open circuit potential became more negative (Fig. 4-2) and R_A decreased (Tables 4.1 and 4.2). On average R_A decreased from about 2000 Ω to 200-400 Ω . In all MFCs the anode potential corresponding to maximum power output became more negative with time approaching approximately -380 mV vs Ag/AgCl electrode at maximum power generation (Fig. 4-2). This observation agrees with other studies [26, 27], where a maximum of electrogenic activity was observed at anodic potentials between -300 and -420 mV vs Ag/AgCl.

Table 4.1: Characterization of MFC1 and MFC2 operated with a fast adjustment of R_{ext} resulting in $R_{ext} \sim R_{int}$

Days after inoculation	R_{ext} (Ω)	COD removal (%)	Coulombic efficiency (%)	Polarization tests			EIS tests	
				P_{max}	R_{int}	R_{anode}	R^{ct}	R_{anode} total
				($W m^{-3}$)	(Ω)	(Ω)	(Ω)	(Ω)
4	400	66,1	0,9	1,4	728,9	529,1	665,3	666,0
11	400	71,3	1,7	4,2	433,1	207,3	245,7	247,0
15	400	73,9	4,9	13,3	86,8	32,4	18,4	19,8
17	100	83,2	13,5	36,2	37	9,6	6,5	7,9
11 and 22	50	90,4	24,1	79,4	14,1	4,4	$3,7 \pm 0,9$	$5,0 \pm 0,8$
24	30	90,9	32,9	$77,3 \pm 15,1$	$18,9 \pm 7,6$	$7,6 \pm 4,6$	2,6	4,3
28	15	93,9	48,1	98,6	10,7	3	1,9	3,7

The observed changes of the anode potential and internal resistance were indicative of the electrode colonization by the anode-reducing microorganisms. Samples of MFC5 carbon felt anode were periodically taken to measure the concentration of proteins to follow biofilm formation. Notably, anode sampling required periodic exposure of the anodic compartment to air

as well as the size of the anode was decreasing after each sampling. Since such sampling procedure could affect the electrochemical characteristics of the anode, MFC5 was not used for CV and EIS tests. Measurements of the protein content of the MFC5 anode showed increasing protein concentration with time suggesting biofilm development at the anode (Fig. 4-3A). Also, scanning electron micrographs confirmed biofilm formation around the carbon felt anode fibers (results not shown).

Table 4.2: Characterization of MFC3 and MFC4 operated with a slow adjustment of R_{ext} resulting in $R_{\text{ext}} \gg R_{\text{int}}$

Days after inoculation	R_{ext} (Ω)	COD removal (%)	Coulombic efficiency (%)	Polarization tests			EIS tests	
				P_{max}	R_{int}	R_{anode}	R^{ct}	$R_{\text{anode total}}$
				(W m^{-3})	(Ω)	(Ω)	(Ω)	(Ω)
1 and 4	400	47,5 $\pm 9,0$	$0,3 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,3$	2502 ± 1618	1975 ± 1385	1832 ± 217	1835 ± 219
8 and 11	400	47,8 $\pm 18,4$	$4,2 \pm 1,2$	$11,2 \pm 7,0$	488,2 $\pm 27,7$	377 $\pm 11,6$	1539 ± 53	1549 ± 62
18 and 22	400	37,9 $\pm 16,1$	$11,1 \pm 5,7$	$23,6 \pm 1,9$	64,1 $\pm 9,0$	32,4 $\pm 2,0$	$14,2 \pm 2,6$	$15,0 \pm 2,5$
25 and 35	100	53,7 $\pm 14,3$	$25,1 \pm 7,1$	$49,2 \pm 20,9$	38,7 $\pm 16,5$	13,6 $\pm 9,2$	$4,8 \pm 2,3$	$5,9 \pm 2,3$
32 and 53	50	57,8 $\pm 18,1$	$39,8 \pm 9,2$	$49,6 \pm 20,5$	36,0 $\pm 15,0$	$9,2 \pm 5,8$	$4,7 \pm 3,2$	$5,8 \pm 3,1$
53 and 57	30	57,3 $\pm 12,8$	$44,4 \pm 1,3$	62,9	20,5	5,1	1,7	3,1
63	15	63,7	77,8	63,1	19,1	5,2	1,9	3,1

Interestingly, protein concentration of MFC5 anode, which was operated under the same conditions as MFC1 and MFC2 (fast resistance adjustment), continued to increase even after R_A and OCP values in these MFCs were observed to stabilize (Fig.4-3). The observed increase of the protein concentration coincided with the continuing improvement of MFC performance expressed as MFC current density in Fig. 4-3A. Also, acetate removal and Coulombic efficiencies increased with time reaching 99% and 48%, respectively (Table 4.1). This evolution in MFC performance agrees with the increasing density of the electrode-reducing microorganisms, as internal resistance is known to be linked to the catalyst load [28].

The strategy of fast R_{ext} adjustment to approach R_{int} led to higher power outputs and a faster decrease of R_A in MFC1 and MFC2 as compared to MFC3 and MFC4, which were operated at $R_{ext} \gg R_{int}$ (Fig. 4-2 and Tables 4.1,4.2). We hypothesize that by operating MFCs at R_{ext} values close to R_{int} , which facilitates electron transfer to the anode by increasing its potential, growth advantages for anode-reducing microorganisms were provided resulting in higher density of the microorganisms, which in turn improved MFC performance as observed in other studies [6, 29].

Although by the end of the experiment R_{int} and R_A values were not significantly different for all MFCs, the power output of MFC1 and MFC2 remained higher. Overall, the polarization tests showed that R_{int} and R_A decreased to 10-20 Ω and 3-5 Ω , respectively. This observation suggests that MFC performance, although linked to biofilm density, might be also influenced by the microbial community structure, which is not only time-dependent, but is also affected by the external resistance chosen for MFC operation [5, 13, 16].

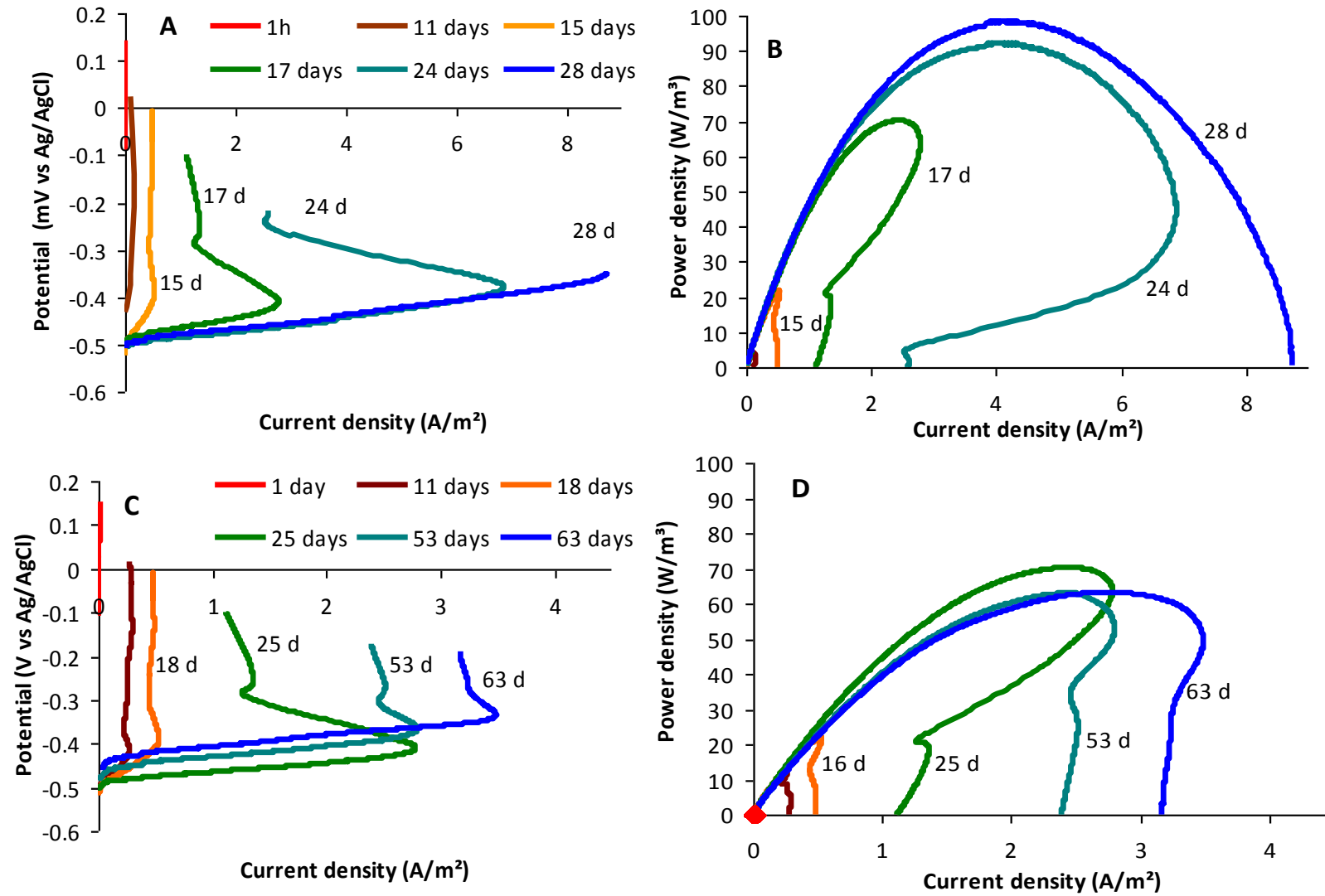


Figure 4-2: Anode polarization (A,C) and power (B, D) curves obtained during polarization tests in MFC2 operated at $R_{\text{ext}} \sim R_{\text{int}}$ (A,B) and in MFC4 operated at $R_{\text{ext}} > R_{\text{int}}$ (C,D)

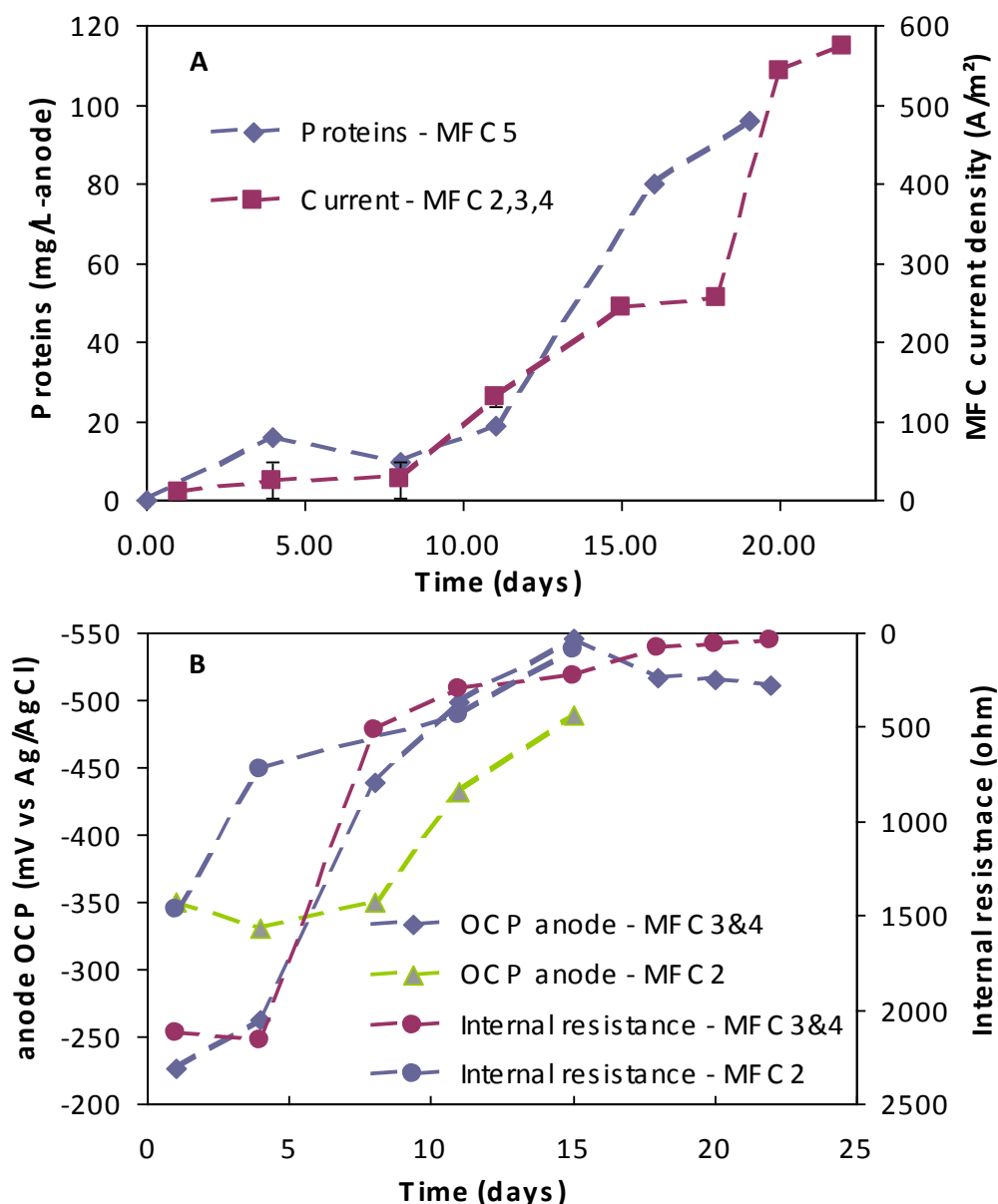


Figure 4-3: (A) Measurements of time-related evolution of protein concentration at the anode and current density; (B) anode OCP and R_{int} measurements. MFC2 and MFC5 were operated at $R_{ext} \sim R_{int}$, while MFC3 and MFC4 were operated at $R_{ext} > R_{int}$

Estimations of the anodic resistance using the linear part of the polarization curves can be biased due to the influence of the reactants flow towards the electrode, (i.e. diffusion and charge transfer limitations are included) and the existence of additional redox processes. Consequently, EIS measurements were carried out to validate the R_A estimations obtained in the PT tests. Impedance studies of MFCs with carbon felt anodes often use a one time-constant model for resistance estimation [7, 9, 11, 16, 18]. However, the initial analysis of the EIS spectra showed the presence

of two semi-circles in MFC1-MFC4 spectra (Fig. 4-4), thus necessitating the use of the two time-constant model shown in Fig. 4-1. The existence of two semi-circles in EIS spectra of MFCs was also noticed by Ramasamy et al [17], who suggested that the high-frequency semi-circle is caused by endogenously-produced redox mediators used as a shuttle for electron transfer and metallic salts oxidation or reduction on anodes. To verify this hypothesis, EIS measurements were carried out in a MFC filled with the solution of nutrients and microelements used during MFC operation but containing no biomass. This abiotic test (not shown) showed a high frequency semi-circle similar to the first semi-circle in Fig. 4-4, while the second semi-circle was absent. The width of the high frequency semi-circle in the abiotic test was only slightly smaller as compared to MFCs with the anode-reducing microorganisms. Thus, the presence of the high-frequency semi-circle in our tests could be attributed to salts of the influent solution (e.g. phosphates) rather than endogenous mediators.

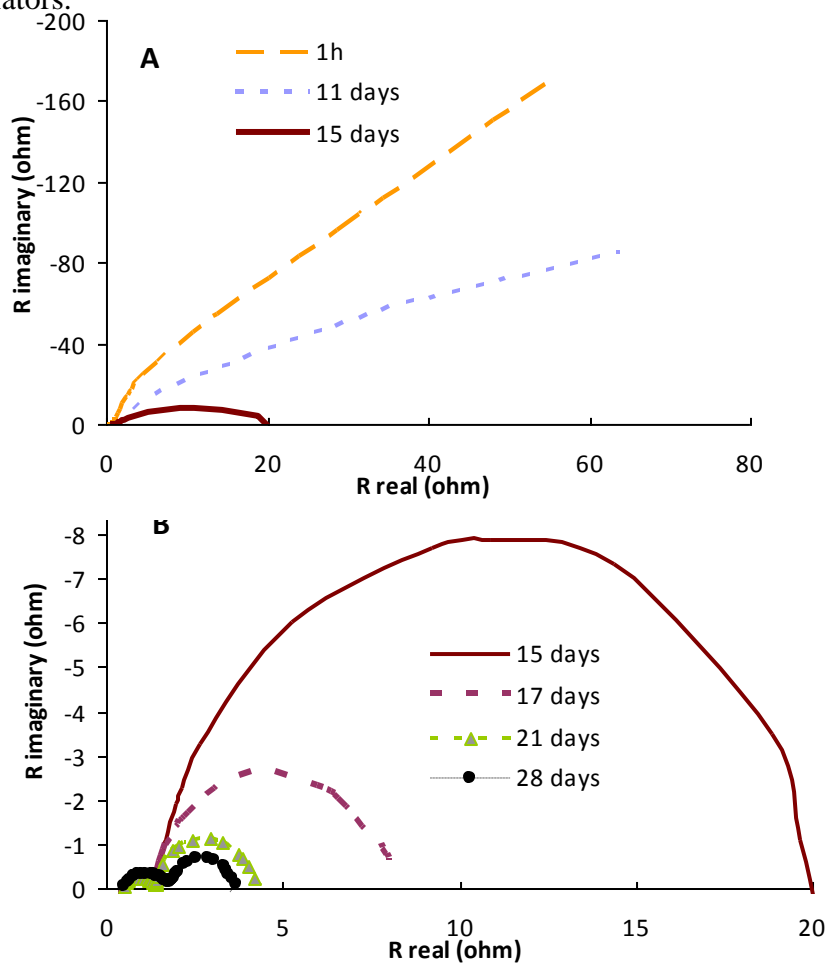


Figure 4-4: Anode EIS spectra observed during (A) days 0-15; and (B) days 15-28 of MFC2 operation

Overall, EIS measurements confirmed R_A trends obtained in the polarization tests. It also showed the decrease in charge transfer resistance (R^{ct}) with time (Tables 4.1 and 4.2). R_A values estimated by the two methods were in a reasonable agreement, although values obtained in polarization tests tended to be higher, at least at the beginning of biofilm formation when the R_A was high. Interestingly, EIS measurements revealed an increase in MFC capacitance on average from 79 ± 38 mF measured after first two weeks of MFC operation to 440 ± 272 mF by the end of the test. The capacitance measured at the end of the experimental period was similar to values reported for a mature biofilm in another study [16]. The considerable capacitance increase indicates a larger active surface area and an increase of the reaction active sites. This suggests an increase in anode colonization by anode-reducing microorganisms rather than an increase in the microbial activity of a near constant number of microorganisms. The CPE used for fitting provided, along with the capacitance estimation, an indication of the significant influence of the electrode heterogeneity on anodic charge transfer, rather than diffusion processes [9, 16, 18].

Cyclic voltammograms provided another valuable monitoring tool showing the appearance of redox peaks at potentials around -330 mV and -170 mV (vs Ag/AgCl electrode) shortly after MFC start up and before the increase in output voltage was observed around day 5 - 7 (Fig. 4-5). Voltammograms of MFC1 and MFC2 showed that simultaneously with the voltage increase, the redox system located at -330 mV intensified, while the redox system at -170 mV either remained unchanged or appeared to merge with the redox system at -330 mV (Fig. 4-5A). CVs of MFC3 and MFC4 where R_{ext} remained above R_{int} showed that the redox system at -330 mV was predominant, while the second redox system eventually disappeared (Fig. 4-5B). Voltammograms of all MFCs showed increased current generated by the oxidation reaction with time as can be seen from the evolution of the normalized current density corresponding to the current peak at around -330 mV (Fig. 4-6). Once again, this pointed to the proliferation of the anode-reducing microorganisms.

The presence of multiple redox systems indicates that more than one oxidation-reduction reaction of biological matter can occur at the anode surface. Based on these results, we hypothesized that more than one electroactive species (microorganisms or mediators) could be responsible for charge transfer, although only one of them was predominant. Indeed, anaerobic sludge contains a diverse microbial population capable of electron transfer using different charge transfer mechanisms (*e.g.* through cytochrome-based and mediated transfer) as described by Aelterman

[6]. Notably, mediated transfer is possible in multiple ways and through several mediators (quinones, phenazines, melanin, flavins, metal chelates) [1, 3, 30, 31]. The co-existence of these mediators cannot be excluded. Biofilms that develop on anodes of such systems are likely to be important environments for metabolisms that employ extracellular electron transfer, since electron shuttling has been reported for several different bacterial species and exchanges of shuttling compounds (syntrophy) most likely occurs in such biofilms [2, 31].

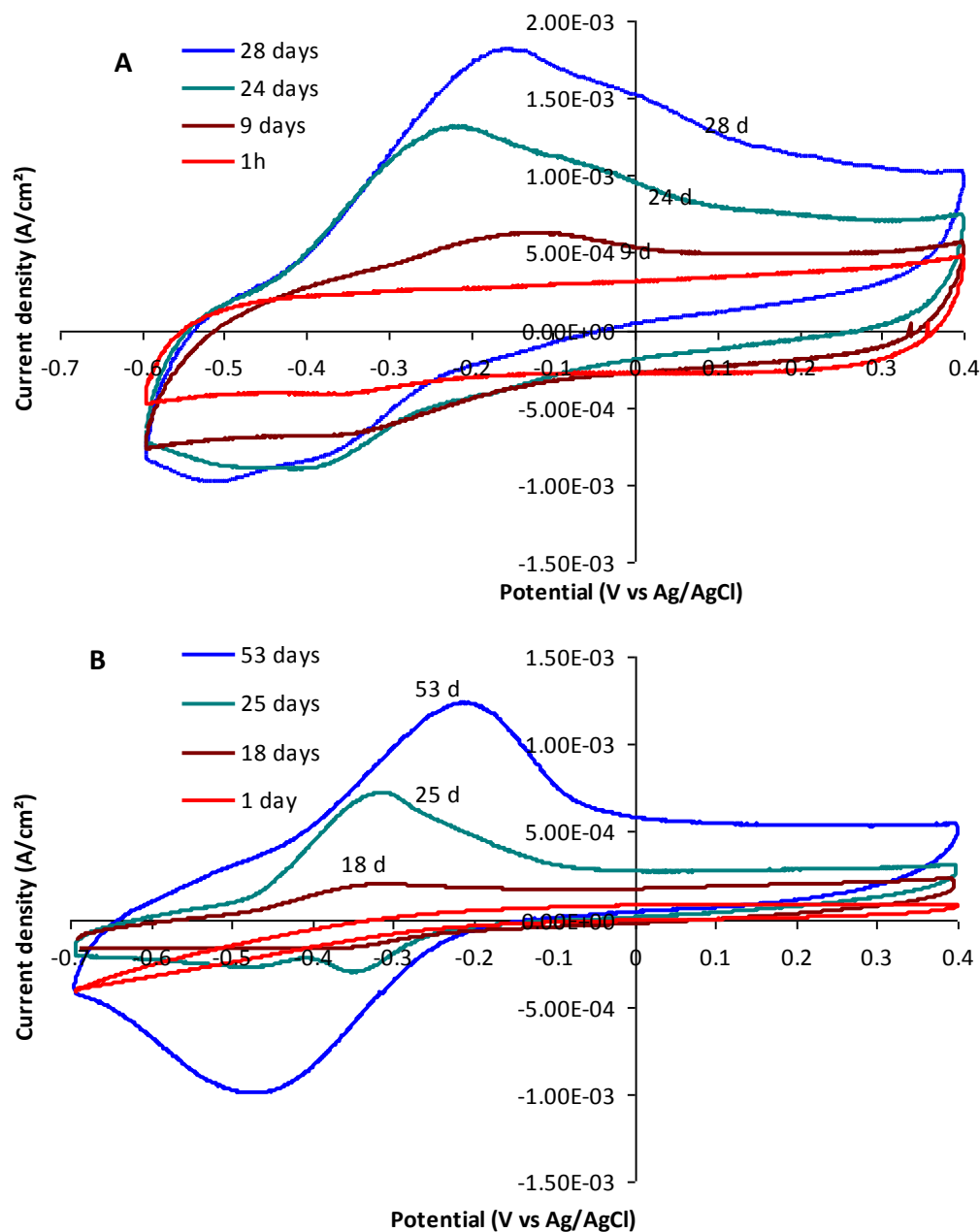


Figure 4-5: Cyclic voltammograms of anode obtained during MFC2 ($R_{\text{ext}} \sim R_{\text{int}}$) (A) and MFC4 ($R_{\text{ext}} > R_{\text{int}}$) (B) operation. CVs were acquired at a scan rate of 100 mV s^{-1}

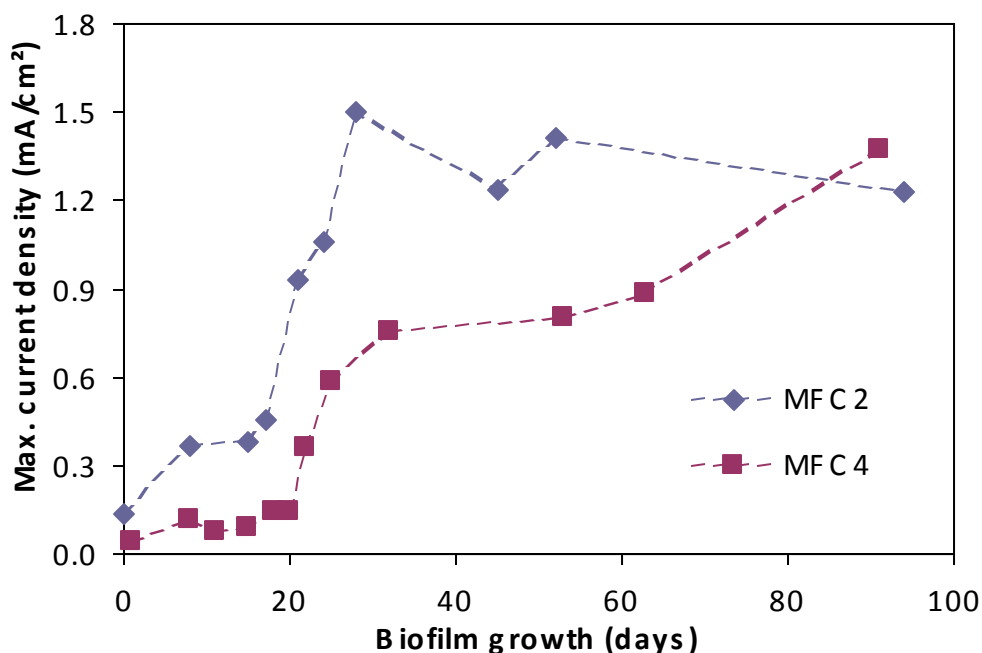


Figure 4-6: Anodic peak current density ($i_{p,a}$) acquired during CV tests at 50 mV s^{-1} for MFC2 operated at $R_{\text{ext}} \sim R_{\text{int}}$ and MFC4 operated at $R_{\text{ext}} > R_{\text{int}}$

Previous works pointed out the possibility of multiples steps of charge transfer by *Geobacter spp.* [21, 22], while a recent study proposed electron transfer paths for *Geobacter* that consist of outer membrane electrode-bound cytochromes working as a series of mediators with different redox potentials [23]. Therefore it can be hypothesized that in addition to the existence of several electrochemically active species the charge transfer pathway may vary depending on MFC operating conditions and the microorganism distance from the anode.

Further electrochemical characterization was carried out by conducting CVs at several scanning rates and plotting normalized anodic peak current densities ($I_{p,a} / I_{p,a,\text{min}}$) against the scan rate (v). The tests conducted at several biofilm growth times showed that the normalized current density of the redox peak at around -330 mV is linearly proportional to a square root of v . Similar dependence on v was obtained in MFCs operated at low and high values of R_{ext} . An example of this behaviour observed during MFC4 operation is shown in Figure 4-7. This suggests that the charge transfer process became diffusion-limited [21, 23]. Also, $I_{p,a}$ increase with v indicates a partially diffusion controlled process, but not an irreversible diffusion-controlled process [32]. The slopes of the curves decrease with increasing biofilm growth time and this decrease was more pronounced in MFCs operated at a high R_{ext} . Thus, diffusion limitation due to the

increasing amount of microorganisms was significant in all MFCs, but MFC operation at higher R_{ext} apparently resulted in the biofilm with higher diffusion limitation as compared to lower R_{ext} test in MFC2 (results not shown), possibly due to a significant number of non anode-reducing microorganisms, e.g. methanogens, growing at the carbon fibre surface. Also, MFC operation at high values of R_{ext} slowed the growth of the anode-reducing microorganisms so that significantly longer times were required to form a mature conductive biofilm matrix.

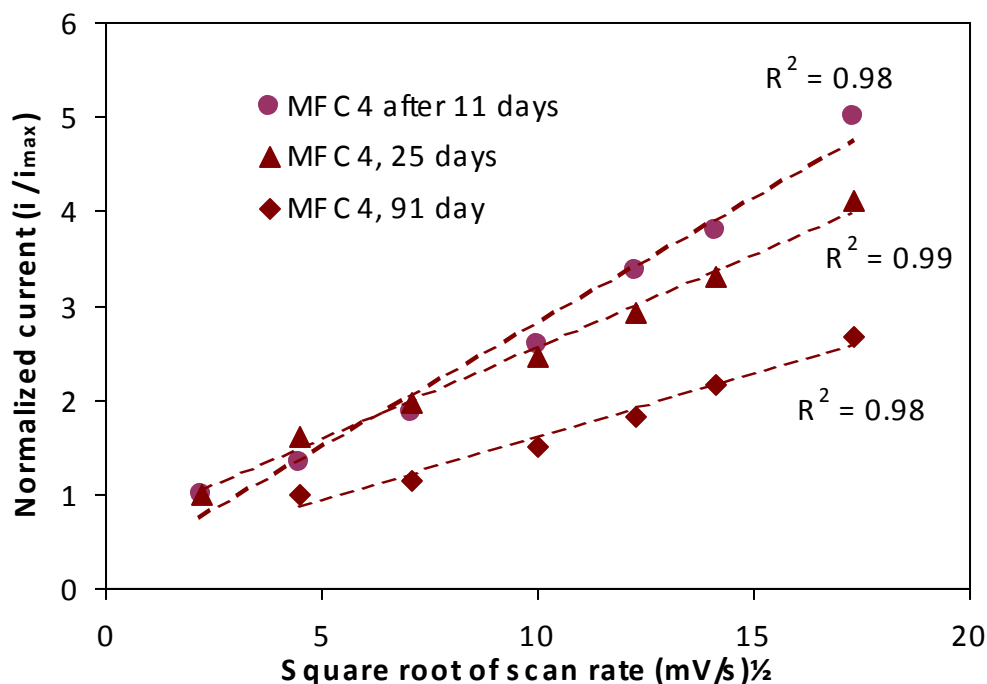


Figure 4-7: Dependence of the normalized anodic peak current density (i/i_{min}) on the square root of the scan rate measured during MFC4 test ($R_{ext} > R_{int}$)

4.5 Conclusion

Through the application of multiple electrochemical techniques this study demonstrated the dynamics of the anodophilic biofilm formation. We observed the evolution of the anodic microbial population with time and demonstrated the effect of biofilm growth on the anode internal resistance and open circuit potential. Interestingly, dynamics of the anodophilic biofilm formation was dependent on MFC external resistance. MFCs operated at R_{ext} close to R_{int} not only featured higher power output and lower internal resistance, but also showed differences in the observed redox reactions. Although a redox couple at -330 mV was predominant in all MFCs, the MFCs with higher power output featured the presence of a second redox couple, albeit

with a smaller peak area. We hypothesize that best efficiency in MFCs can be achieved by combining several charge transfer mechanisms and that MFC operation at R_{ext} close to its R_{int} value promotes the growth of several electrode-reducing microorganisms.

4.6 Acknowledgement

Assistance of Punita Mehta in performing protein analysis is greatly appreciated. Funding for this study was provided by NSERC and NRC Canada (NRC publication no 00000).

4.7 References

- [1] U. Schroder, *Physical Chemistry Chemical Physics* 9 (2007) 2619-2629.
- [2] D. R. Lovley, *Current Opinion in Biotechnology* 19 (2008) 564-571.
- [3] C. Torres, I. , A. K. Marcus, H.-S. Lee, P. Parameswaran, R. Krajmalnik-Brown, B. Rittmann, E. , *FEMS Microbiology Reviews* 34 (2009) 3-17.
- [4] A. E. Franks, N. Malvankar, K. P. Nevin, *Biofuels* 1 (2010) 589-604.
- [5] P. Kiely, D. Call, M. Yates, J. Regan, B. Logan, *Applied Microbiology and Biotechnology* 88 (2010) 371-380.
- [6] P. Aelterman, M. Versichele, M. Marzorati, N. Boon, W. Verstraete, *Bioresource Technology* 99 (2008) 8895-8902.
- [7] Z. He, F. Mansfeld, *Energy & Environmental Science* 2 (2009) 215-219.
- [8] B. E. Logan, B. Hamelers, R. Rozendal, U. Schroder, J. Keller, S. Freguia, P. Aelterman, W. Verstraete, K. Rabaey, *Environ. Sci. Technol.* 40 (2006) 5181-5192.
- [9] A. K. Manohar, O. Bretschger, K. H. Nealson, F. Mansfeld, *Bioelectrochemistry* 72 (2008) 149-154.
- [10] P.-Y. Zhang, Z.-L. Liu., *J. Power Sources* 195 (2010) 8013-8018.
- [11] A. K. Manohar, F. Mansfeld, *Electrochim. Acta* 54 (2009) 1664-1670.
- [12] E. Martin, O. Savadogo, S. R. Guiot, B. Tartakovsky, *Biochemical Engineering Journal* 51 (2010) 132-139.
- [13] D. Y. Lyon, F. Buret, T. M. Vogel, J.-M. Monier, *Bioelectrochem.* 78 (2010) 2-7.

- [14] P. Clauwaert, P. Aelterman, T. Pham, L. De Schampheleire, M. Carballa, K. Rabaey, W. Verstraete, *Applied Microbiology and Biotechnology* 79 (2008) 901-913.
- [15] L. Flandin, A. S. Danerol, C. Bas, E. Claude, G. De-Moor, N. Alberola, *Journal of The Electrochemical Society* 156 (2009) B1117-B1123.
- [16] A. P. Borole, D. Aaron, C. Y. Hamilton, C. Tsouris, *Environmental Science & Technology* 44 (2010) 2740-2745.
- [17] R. Ramasamy, P. , V. Gadhamshetty, L. Nadeau, J. , G. Johnson, R. , *Biotechnology and Bioengineering* 104 (2009) 882-891.
- [18] R. Ramasamy, P., Z. Ren, M. Mench, M. , J. Regan, M. , *Biotechnology and Bioengineering* 101 (2008) 101-108.
- [19] S. Srikanth, E. Marsili, M. Flickinger, C., D. Bond, R. , *Biotechnology and Bioengineering* 99 (2008) 1065-1073.
- [20] K. Chung, S. Okabe, *Applied Microbiology and Biotechnology* 83 (2009) 965-977.
- [21] K. Fricke, F. Harnisch, U. Schroder, *Energy & Environmental Science* 1 (2008) 144-147.
- [22] Y. Liu, F. Harnisch, K. Fricke, U. Schröder, V. Climent, J. M. Feliu, *Biosensors and Bioelectronics* 25 (2010) 2167-2171.
- [23] H. Richter, K. P. Nevin, H. Jia, D. A. Lowy, D. R. Lovley, L. M. Tender, *Energy & Environmental Science* 2 (2009) 506-516.
- [24] B. Tartakovsky, S. R. Guiot, *Biotechnology Progress* 22 (2006) 241-246.
- [25] E. Barsoukov, J. R. Macdonald *Impedance Spectroscopy - Theory, Experiment, and Applications*; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, New Jersey, 2005.
- [26] C. Torres, I. , A. K. Marcus, B. Rittmann, E., *Biotechnology and Bioengineering* 100 (2008) 872-881.
- [27] K. Y. Cheng, G. Ho, R. Cord-Ruwisch, *Environmental Science & Technology* 42 (2008) 3828-3834.
- [28] A. M. Chaparro, B. Gallardo, M. A. Folgado, A. J. Martín, L. Daza, *Catalysis Today* 143 (2009) 237-241.

- [29] S. Freguia, K. Rabaey, Z. Yuan, J. r. Keller, *Environmental Science & Technology* 41 (2007) 2915-2921.
- [30] V. Debabov, *Microbiology* 77 (2008) 123-131.
- [31] M. E. Hernandez, D. K. Newman, *Cellular and Molecular Life Sciences* 58 (2001) 1562-1571.
- [32] A. J. Bard, L. R. Faulkner *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*; 2nd ed.; John Wiley & Sons, Inc.: Toronto, 2001.

CHAPITRE 5 ELECTROCHEMICAL STUDY OF THE EFFECT OF THE ANODIC BIOFILM LIMITATIONS ON THE PERFORMANCES OF MICROBIAL FUEL CELLS

Article soumis à *Journal of Power Sources* en mars 2011

Auteurs : Edith Martin, Boris Tartakovsky et Oumarou Savadogo

5.1 Abstract

In this work we use electrochemical techniques (electrochemical impedance spectroscopy (EIS), cyclic voltammetry (CV) and polarization tests) to investigate anode performance and microbial fuel cells limitation under various operational conditions of membraneless air-cathode microbial fuel cells (MFCs). It is shown that the value of the evaluated resistance depends on the method of measurement, e.g. polarization or EIS. EIS measurements revealed the presence of a secondary electrochemical process occurring on anodes, which is caused by the oxidation and/or reduction of the electrolyte salts (acetate, phosphates, chlorides). Polarization curves showed significant concentration losses, which we assess to be due to proton accumulation in the biofilm at considerable acetate concentration and high current density, causing local acidification that might limit acetate uptake by microorganisms. This was confirmed by cyclic voltammetry tests under various organic loads and low electrolyte conductivity. Lower acetate concentration and conductivity leads to lower power generation and acetate consumption, therefore proton accumulation is a non-negligible limitation that can only be circumvented with a buffer concentration increase to keep good MFCs performance. It was concluded that the diffusion process in the biofilm is the limiting factor of MFCs performance.

Keywords : MFC, cyclic voltammetry, electrochemical impedance spectroscopy, linear polarization, limitations, losses

5.2 Introduction

A microbial fuel cell (MFC) is a promising environmental technology combining organic matter removal from wastewater and electricity production [1, 2]. This fuel cell type relies on microorganisms transferring electrons to the anode while oxygen reduction reaction is commonly performed at the cathode [3, 4]. The electrode-reducing microorganisms in the anodic biofilm

play a key role in MFCs performance [5, 6]. Accordingly, it is very important to develop knowledge on a better understanding of the biofilm limitations on MFC performance.

The activation, ohmic and concentration over voltages are the main losses in a MFC. These losses are responsible for the decrease of the MFC current and power. Protons and acetate transport through biofilm, external load, electrolyte conductivity as well as cathodic activity are amongst the main influencing factors on MFCs performance [7-13]. Limitations identification can be achieved from electrochemical evaluation under different operational conditions by using techniques such as polarization test, cyclic voltammetry (CV) and electrochemical impedance spectroscopy (EIS) [14-16]. These techniques are recognized as good characterization methods for analyzing MFCs internal, anode and cathode resistances and properties, electrochemical reactions taking place onto electrodes, microbial metabolism, mass transfer limitations and power generation [15, 17, 18].

Depending on the design (air-cathode vs. 2-compartments MFC), inoculum (pure vs. mixed culture), operational conditions, substrate nature and availability, MFC performance and electrochemical response may vary since the biofilm will be influenced by these parameters [6, 19-23]. MFC systems based on the diversity of microorganisms allow high current and power densities using a variety of carbon sources. However, they are usually affected by the formation of electrochemically inactive side reactions products [5]. This paper is dedicated to the investigation of the limitations of MFC performance related to the anodic biofilm. We will use various electrochemical techniques (EIS, CV and polarization) under different operational conditions (organic load rate, conductivity, external load) with two types of anodes (carbon paper and felt) for a better characterization and understanding of losses and limitations in a single-chamber membraneless air-cathode acetate-fed MFC.

5.3 Materials and methods

5.3.1 MFC design and operation

Four single-chamber membraneless air-cathode MFCs were operated for time periods ranging from 1 to 7 months. MFC design can be found in Martin et al. [23]. The anodic chamber volume was 50 mL (5 cm x 10 cm X 1cm). A 5 cm x 10 cm carbon paper (NCBE, University of Reading, UK) was used as anode in MFC1. In MFC2, MFC3 and MFC4, anodes consisted of 5 cm x 10

cm 5mm-thick carbon felts (SGL Carbon SE). Cathodes consisted of a gas diffusion electrode (GDE) with a Pt loading of $0,5 \text{ mg cm}^{-2}$ (E-TEK Division, PEMEAS Fuel Cell Technologies, Somerset, NJ, USA). The felt anodes were separated from cathodes with a J-cloth[®], resulting in a distance of approximately 1mm between electrodes; carbon paper anode was placed at a distance of 10mm to avoid electron diversion to oxygen. MFC voltage was monitored via a data acquisition card (LabJack U12, Lab Jack Corporation, Colorado, USA).

MFCs were operated at room temperature in a continuous flow mode with a hydraulic retention time of 12 h. Anodic electrolyte required no pH adjustment (pH~7) and its mixing was achieved by a peristaltic pump in the recirculation line. Stock solution of sodium acetate and nutrients was fed at a rate of 5 mL d^{-1} by a syringe pump (model NE-1000, New Era Pump Systems, Inc., Wantagh, NY, USA). Acetate and nutrients stock solution were combined with dilution water containing 1 mL of stock solution of microelements per liter.

Following the addition of inoculum in the anodic compartment, microbial fuel cells were firstly operated at an external resistance (R_{ext}) of 1000Ω (MFC1) and 400Ω (MFC2 to 4). R_{ext} was periodically decreased to fit MFC internal resistance until attainment of lower R_{int} and maximal power generation. MFCs and anodes performance were then monitored and growth and activity of electrode-reducing microorganisms was evidenced by cells voltage monitoring as well as by electrochemical measurements.

5.3.2 Inoculum, media composition and analytical methods

MFCs were inoculated with homogenized anaerobic mesophilic sludge ($\text{VSS} \cong 50 \text{ g L}^{-1}$) (A. Lassonde Inc., Rougemont, Quebec, Canada). The stock solution of microelements contained (in g L^{-1}): $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2), H_3BO_3 (0,05), ZnCl_2 (0,05), CuCl_2 (0,03), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0,5), $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0,05), AlCl_3 (0,05), $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,05), NiCl_2 (0,05), EDTA (0,5) and HCl ($1\mu\text{L}$). The standard stock solution of acetate and nutrients contained (in g L^{-1}): yeast extract (0,83), NH_4Cl (18,68), KCl (148,09), K_2HPO_4 (64,04), KH_2PO_4 (40,69), and anhydrous sodium acetate (54,67). Acetate and salts concentration have been changed in some experiments, as will be stated below. Acetate quantity was halved or doubled to obtain respective concentrations of 27,34 and $109,34 \text{ g L}^{-1}$ in stock solutions, allowing organic loads (OLRs) of 2, 4 and $8 \text{ g L}^{-1} \text{ day}^{-1}$. In another solution phosphates and chlorides quantity was lowered to one fifth to study low

conductivity electrolyte. Acetic acid concentration in effluent was measured by gas chromatography (GC) using an Agilent 6890 (Wilmington, DE) with a detection limit of 0,2 mg L⁻¹ (see method description elsewhere [24]). Effluents conductivity was measured using an Accumet XL30 (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, USA). Table 5.1 shows the different experimental parameters which were varied as operating conditions tested in each MFC.

Table 5.1: Operating conditions tested in each MFC

MFC	Various acetate loading rates	Acetate exhaustion	Different electrolyte conductivities	Various external loads
1	√			
2	√	√	√	
3		√		√
4			√	

5.3.3 Electrochemical measurements

Electrochemical impedance spectroscopy (EIS) was performed using a frequency response analyzer (FRA) (Model 1260A, Solartron Analytical, Hampshire, UK) connected to a potentiostat (Solartron 1470, Solartron Analytical, Hampshire, UK). ZPlot software (Solartron Analytical, Hampshire, UK) was used as potentiostat and FRA controller, and ZView software (Solartron Analytical, Hampshire, UK) was used for data analysis. Experiments were carried out in a three-electrode mode, the anode being the working electrode, the cathode a counter electrode and an Ag/AgCl electrode (1M KCl, 222 mV vs NHE) as reference. The measurements were performed at the anode working potential (V_{app}) while MFCs were operated at constant external resistance (R_{ext}) in order to study the anode behavior during cell operation. EIS tests were carried out at an AC signal amplitude of 5 mV at 37 logarithmic frequency steps between 100 kHz and 5 mHz, resulting in a test duration of approximately 30 minutes.

Acquired EIS spectra on anode showed a two-time-constant model (two semi-circles). The obtained data were fitted with an electrical equivalent circuit where R_S is the solution resistance, R^{oth} is the resistance of a secondary redox process and CPE^{oth} its constant phase element, R_A^{ct} is

the anodic charge transfer resistance and CPE^{ct} the constant phase element related to charge transfer. Constant phase elements (CPE) are used instead of standard capacitances in the modeling because of inhomogeneous conditions (roughness, porosity, distribution of reaction sites) [25]. Fitting both semi-circles with a CPE is used to determine the surface capacitance value and the influence of the diffusion and electrode structure.

Cyclic voltammetry (CV) was performed utilizing a potentiostat (273A, Princeton Applied Research, Tennessee, USA). The anode and cathode were used as working and counter electrodes respectively, while an Ag/AgCl electrode was employed as reference. Voltammetry was carried out at different scan rates between 300 and 5 mV/s, at potentials between $-0,9$ and $0,4V$ vs Ag/AgCl. CorrWare and CorrView software (Solartron Analytical, Hampshire, UK) were used respectively for potentiostat control and data analysis.

Polarization and power curves were acquired with a potentiostat (273A, Princeton Applied Research, Tennessee, USA), which controlled the cell voltage (E_{MFC}) while measuring the generated current (I). The tests were performed from open circuit voltage (OCV) to short circuit at a scan rate of $0,5mV/s$. The anode was employed as working electrode while the cathode was used as counter and reference electrode. Both electrodes potential were measured against Ag/AgCl references via a data acquisition card (LabJack U12, LabJack Corporation, Colorado, USA). In some instances manual polarization was carried out, where R_{ext} was manually decreased from 10 000 (OCV) to 1Ω by logarithmic steps every 5 minutes. Cell voltage and electrodes potential were measured as well. During manual polarization, EIS measurements were performed at R_{ext} of 5000, 200, 70, 20 and $<10 \Omega$.

Power (P) was calculated as $P = E_{MFC} * I$. Cell voltage and power were plotted against current, allowing the respective evaluation of the MFC internal resistance (R_{int}) as the slope of the linear part of the polarization curve (E_{MFC} vs I) and maximum power output (P_{max}) in the power curve. Anode and cathode potentials were also plotted against current, which allows the estimation of anode and cathode resistances (R_A and R_C respectively) from the linear part of corresponding curves.

5.4 Results

5.4.1 Effect of acetate concentration

The effect of acetate concentration on MFCs performances was studied in several ways. The first method was to perform electrochemical tests at organic loading rates of 2, 4 and 8 g L⁻¹ day⁻¹ in MFC1 (carbon paper) and MFC2 (carbon felt). Results of the polarization tests are shown in table 5.2. The optimum power density of the MFC was obtained respectively with carbon paper and carbon felt based anode for an optimal acetate loading of 4 g L⁻¹ day⁻¹ for both electrodes. This optimum power density was higher for carbon felt anode (92,4 W m⁻³) than for the carbon paper anode (16,7 W m⁻³). These maximal power generations (table 5.2, figure 5-1) resulted in lowest MFC and electrode resistances, EIS measurements showing lower R^{ct} for the optimal load in MFC1 (figure 5-2A) but no significant effect could be seen on R_s and R^{oth}. On the other hand, MFC2 showed a slightly lower R^{ct} at 2 g L⁻¹ day⁻¹ but accompanied by diffusion limitation on the EIS spectrum (linear curve extending to low frequencies [26], figure 5-2B), which is hardly measurable in term of anodic resistance. As well, R_s increased while R^{oth} decreased. Polarization tests thus explicitly showed that an OLR of 2 g L⁻¹ day⁻¹ leads to significantly higher values of R_A and R_C, hence generating lower power output. The loading rates of 4 and 8 g L⁻¹ day⁻¹ resulted in similar EIS spectra. The polarization evaluations clearly showed that the highest loading rate increases anode, cathode and MFC resistances, also resulting in lower power generation. In all cases, important concentration losses are observed and they are linked to the anode (figure 5-1C). The absence of the loading effect on R_s and R^{oth} in MFC1 is in agreement with the small variation between the highest power generation of 16,7 W m⁻³ and the lowest value of 12 W m⁻³. On the contrary the power generation variation in MFC2 (the highest and lowest values are respectively 92,4 W m⁻³ and 32,7 W m⁻³) is more important leading to a significant change of R_s and R^{oth}. Very high acetate concentration in MFC1 at 8 g L⁻¹ day⁻¹ is assumed to be caused by the lack of substrate consumption, leading to its accumulation in the MFC.

Cyclic voltammetry was performed at several scan rates and at various organic loads. Normalized anodic current peaks ($i_{p,a}/i_{p,a,min}$) were plotted against the scan rate (v). Figure 5-4A shows that normalized current density of MFC2 redox peak is linearly proportional to the square root of v , suggesting a diffusion-limited charge transfer reaction, but not an irreversible diffusion-controlled process [9, 27, 28]. Moreover, this dependency is also linked to organic load rates as

the slope decrease with increasing acetate concentration in MFC2, showing a higher diffusion limitation at higher substrate concentration. This observation is surprising since higher substrate concentration normally suggests lower diffusion limitation. MFC1 showed the same diffusion-limited behavior, but high acetate concentration in the MFC at all OLRs tested did not permit noticing the dependency with substrate concentration in anode-paper based MFC, resulting in overlapping curves for the three organic loadings.

Table 5.2: MFCs characterization of carbon paper (MFC1) and carbon felt (MFC2) at various OLR

Materials	OLR (g L ⁻¹ day ⁻¹)	Acetate concentration (mg L ⁻¹)	Polarization tests				EIS tests	
			P _{max}	R _{int}	R _{anode}	R _{cathode}	R ^{ct}	R _{anode} total
			(W m ⁻³)	(Ω)	(Ω)	(Ω)	(Ω)	(Ω)
Carbon paper (MFC1)	2	1463 ± 311	12,0	149,6	94,2	60,7	146,7	149,1
	4	1628 ± 17	16,7	93,8	60,1	33,0	37,7	40,4
	8	8117 ± 520	12,0	130,7	62,8	70,2	82,2	84,7
Carbon felt (MFC2)	2	18 ± 2	37,8	30,5	9,3	20,8	2,0 + diffusion	3,1 + diffusion
	4	172 ± 10	92,4	11,3	3,0	7,4	2,2	3,5
	8	1780 ± 131	80,8	15,0	5,2	9,3	2,3	3,6

To further examine acetate concentration effect on MFC anodic charge transfer process and diffusion limitation, a second test was performed on MFC2 and MFC3, which consisted of feeding the MFCs with stock solution lacking acetate so that all substrate present in MFCs would be consumed. In 12 hours negligible acetate concentrations were obtained in MFC effluents and within 24 hours acetate was exhausted. Electrochemical tests were performed at time 0 of stock solution change, and after 3, 6, 12 and 24 hours. Figures 5-4B and 5-4C show that acetate concentration above 220 mg L⁻¹ in MFCs, no difference in the diffusion-limited behavior can be noted, but below this concentration charge transfer process is once again less limited by diffusion. However, from figure 5-3 showing cyclic voltammograms obtained during acetate exhaustion of MFC2, we note a great current density decrease along with acetate depletion.

Redox potential decrease of the anodic charge transfer from -345 to -380 mV vs Ag/AgCl is explained in this case by Nernst relation linking E_{redox} and electroactive species concentration.

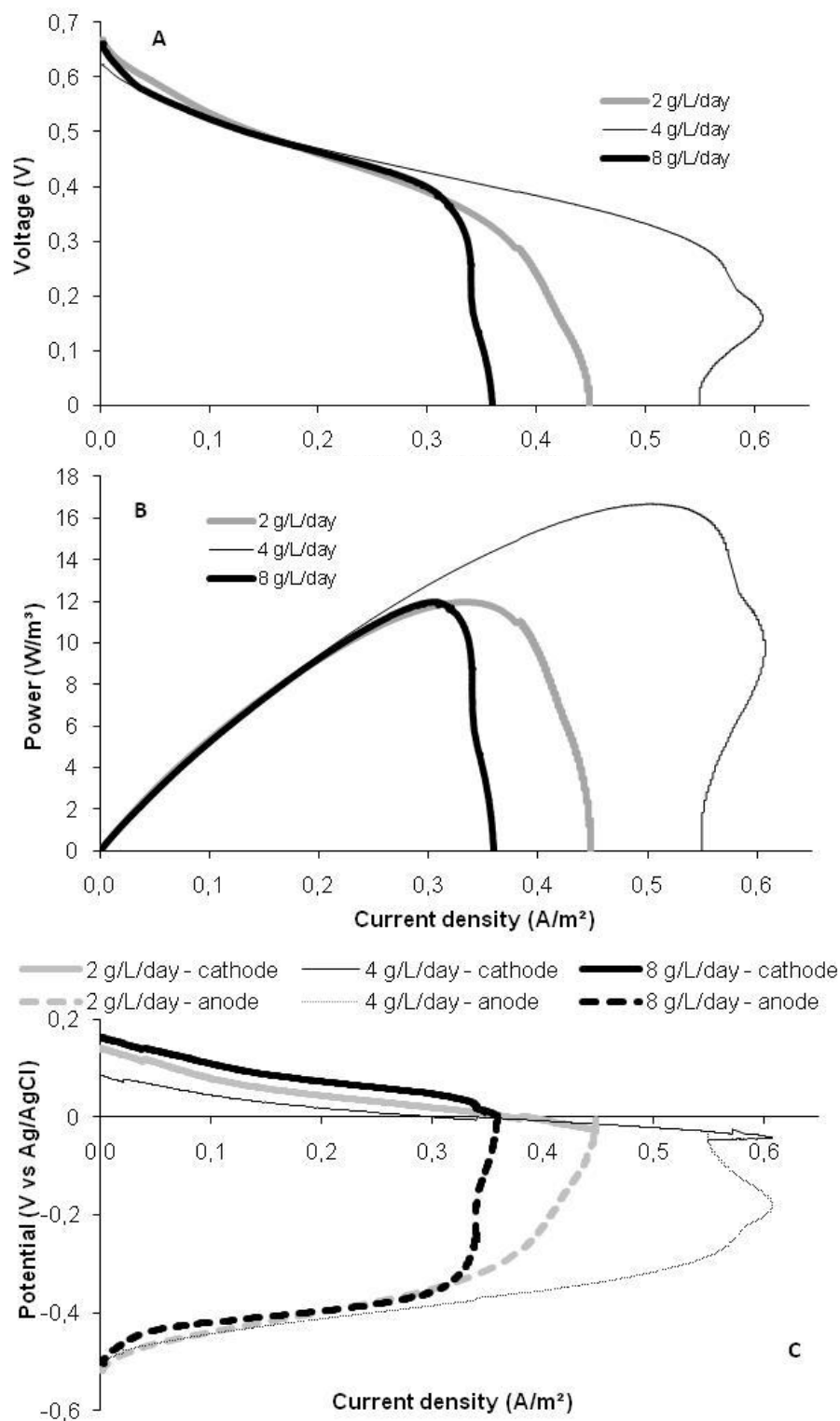


Figure 5-1: Polarization (A, C) and power curves (B) of MFC1 under various OLRs

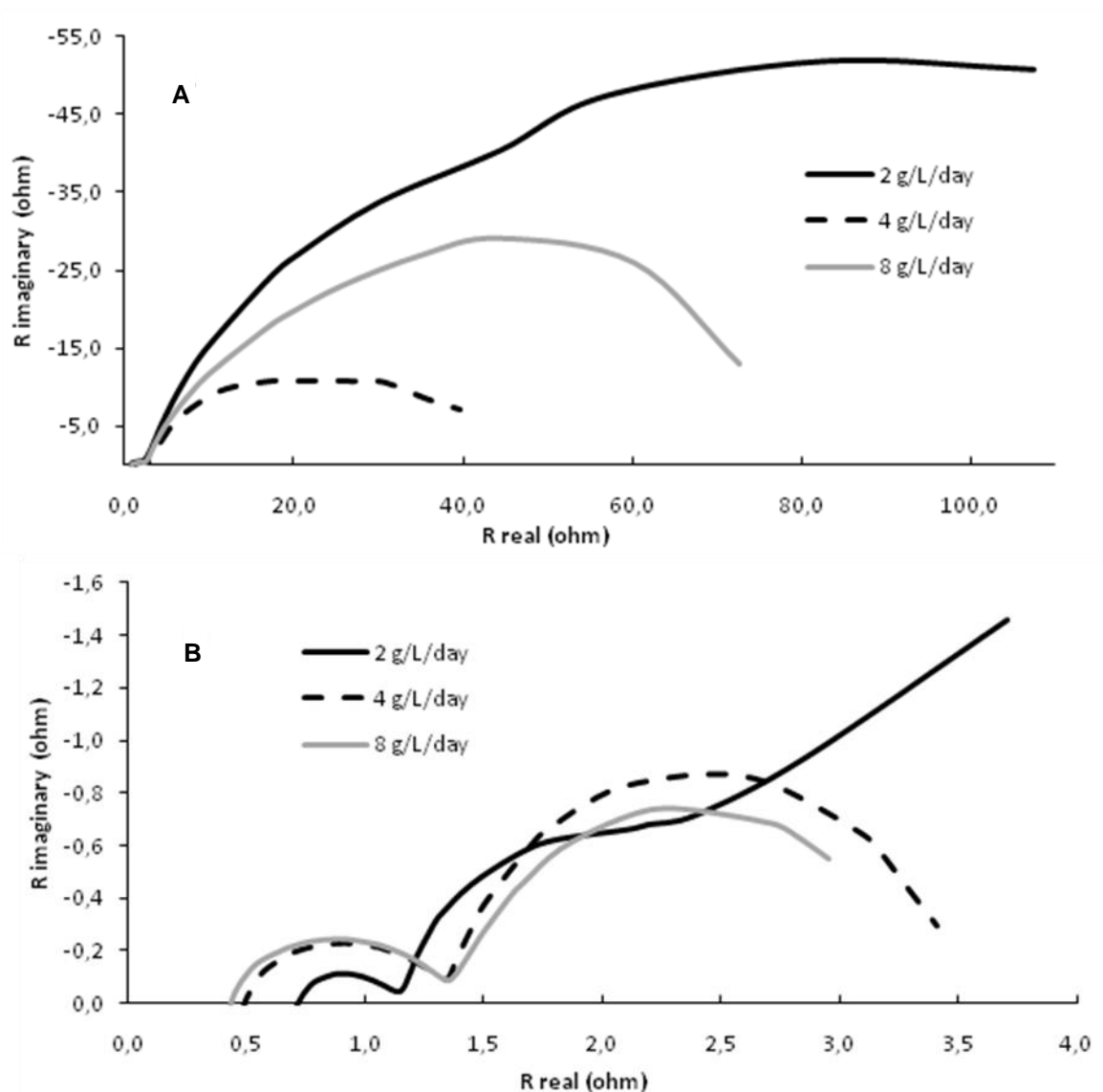


Figure 5-2: EIS spectra of MFC1 (A) and MFC2 (B) at various OLRs

5.4.2 Effect of electrolyte conductivity

Low conductivity solution was tested in MFC2 and MFC4. Electrolyte conductivity was lowered to almost one fifth of the standard electrolyte conductivity. Evaluated parameters from this experiment can be found in table 5.3. Though carbon source was consumed at low electrolyte conductivity, power generation was significantly lower and maximal current was ten times less. R_{int} , R_A and R_C all increased significantly, which was confirmed by EIS measurements showing an increase of R_s , R^{oh} and R^{ct} , with the emergence of mass transfer (diffusion) limitation at low frequencies. Cyclic voltammetry showed once again a decrease of the anodic redox potential

from -345 to -370 mV vs Ag/AgCl. This was most likely caused by a decrease of electroactive species.

Curves showing normalized anodic current peaks ($i_{p,a}/i_{p,a,min}$) against scan rates (v) shows that the anodic reaction is still diffusion-limited with low electrolyte conductivity (linearly dependent with $v^{-1/2}$) but the diffusion limitation is less pronounced, comparable to observations with lowest acetate concentrations (figure 5-4D).

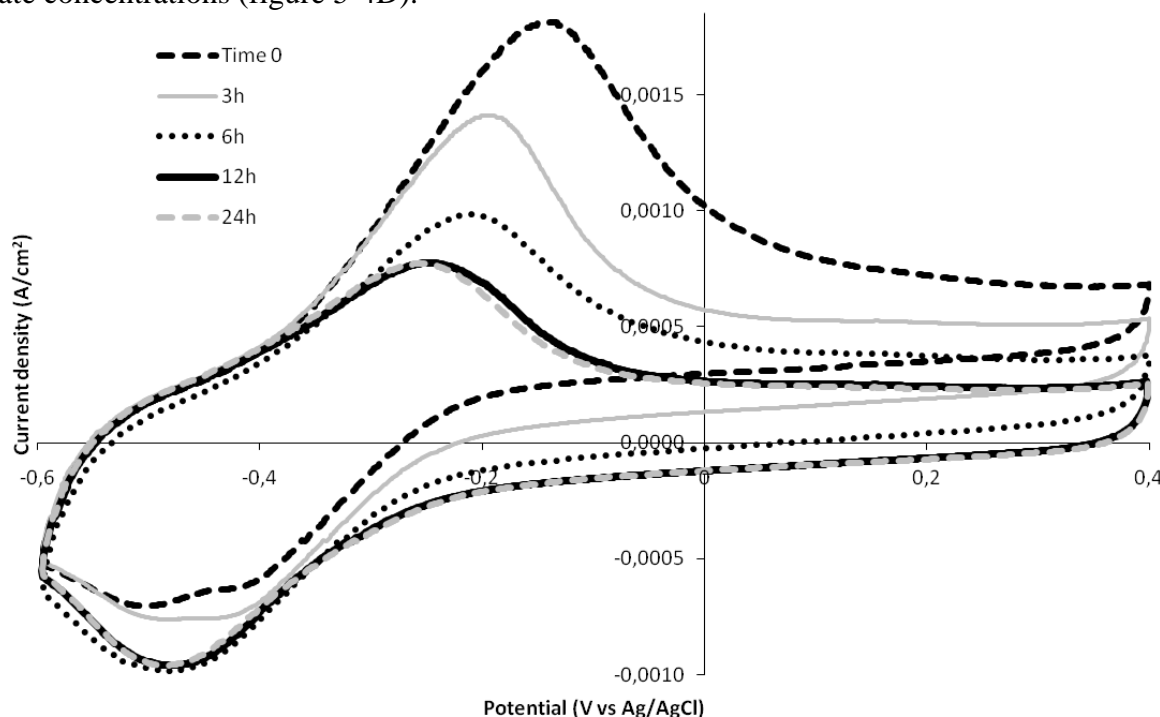


Figure 5-3: Cyclic voltammograms of MFC2 during acetate exhaustion at time 0 and after 3, 6, 12 and 24 hours (scan rate of 50 mV s^{-1})

Table 5.3: Characterization under low and standard electrolyte conductivity in MFC2 and MFC4

Conditions	Conductivity (mS cm^{-1})	Acetate concentration (mg L^{-1})	Polarization tests				EIS tests	
			P_{\max}	R_{int}	R_{anode}	R_{cathode}	R^{ct}	$R_{\text{anode total}}$
			(W m^{-3})	(Ω)	(Ω)	(Ω)	(Ω)	(Ω)
Standard conductivity	20,4	428 ± 55	$77,7 \pm 21,9$	$20,5 \pm 8,4$	$8,2 \pm 5,7$	$11,5 \pm 2,5$	$4,2 \pm 0,6$	$5,3 \pm 0,7$
Low conductivity	4,3	6 ± 6	$23,0 \pm 0,3$	$69,0 \pm 15,3$	$35,5 \pm 12,6$	$32,2 \pm 22,8$	$21,4 \pm 11,8$ + diffusion	$23,1 \pm 11,8$ + diffusion

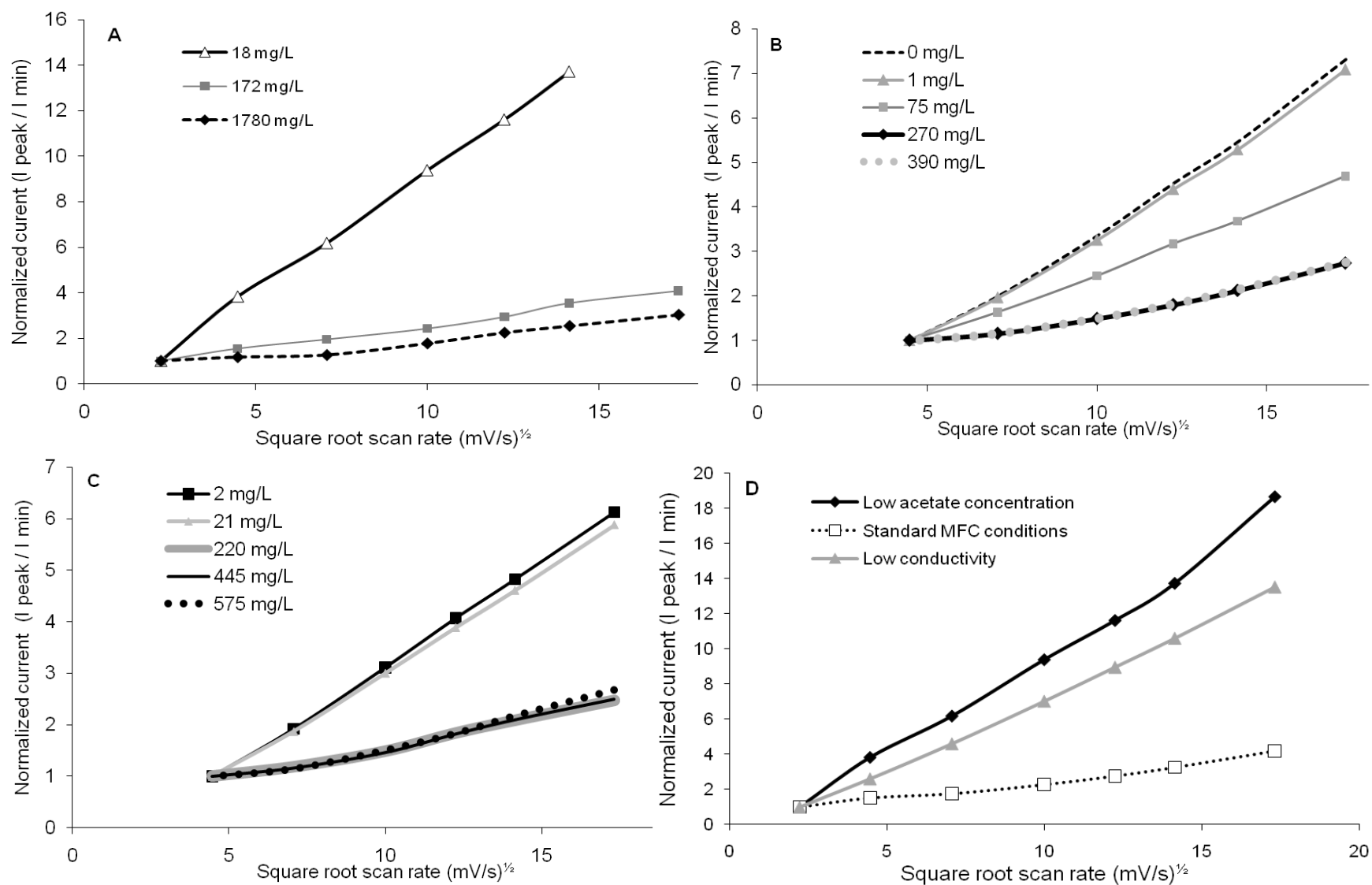


Figure 5-4: Dependence of the normalized anodic peak current density ($i_{p,a}/i_{p,a,min}$) with the square root of the scan rate for MFC 2 (A, B, D) and MFC3 (C) at various OLRs (A), during acetate exhaustion (B, C) and at low electrolyte conductivity (D)

5.4.3 Effect of external load

MFC3 was operated at external load higher than its internal resistance. Accordingly the cell was operated during two weeks under R_{ext} of 30 Ω and another two weeks at R_{ext} of 100 Ω to evaluate the influence of R_{ext} on the cell performances and the reaction limitations processes. Manual polarization was carried out on this MFC in order to perform EIS measurements as well during polarization at 5 external resistances. As previously noted [13], higher performances were observed when MFC3 was operated at R_{ext} of 30 Ω , which is closer to its internal resistance (10-15 Ω) (table 5.4, figure 5-5): better acetate removal, R_{int} , R_{A} , R_{C} , as well as maximal power and current density (i_{max} was taken before concentration losses). We observed that charge transfer and total anode resistances were generally lower when MFC is operated at lower external load (table 5.5), while no significant change of R_{s} and R^{oh} were noted. As well, capacitance increased during polarization tests and were higher for $R_{\text{ext}} = 30 \Omega$. This is an indication of the increase of the metabolic activity of anode-reducing microorganisms during the polarization test and during MFC operation at lower external load. At this external load, anode potential is higher (more positive) during MFC operation, which facilitates and enhances electron transfer to the anode [29]. Concentration losses start when $R_{\text{ext}} < R_{\text{int}}$, and are associated to the anode, and EIS measurements performed in this region show diffusion-limited behavior.

Table 5.4: Characterization of MFC3 under R_{ext} of 30 and 100 Ω

R_{ext} (Ω)	Acetate concentration (mg L^{-1})	Polarization tests					
		R_{int}	R_{cathode}	R_{anode}	P_{max}	i_{max}	$E_{\text{anode at } i_{\text{max}}}$
		(Ω)	(Ω)	(Ω)	(W m^{-3})	(Ω)	mV vs Ag/AgCl
30	534 ± 23	$10,1 \pm 0,4$	$7,2 \pm 0,4$	$3,2 \pm 0$	$108,1 \pm 1,9$	$5,9 \pm 0,7$	-357 ± 15
100	759 ± 1	$12,6 \pm 0,4$	$8,3 \pm 0,1$	$4,0 \pm 0,1$	$95,3 \pm 2,4$	$4,4 \pm 0,1$	-382 ± 2

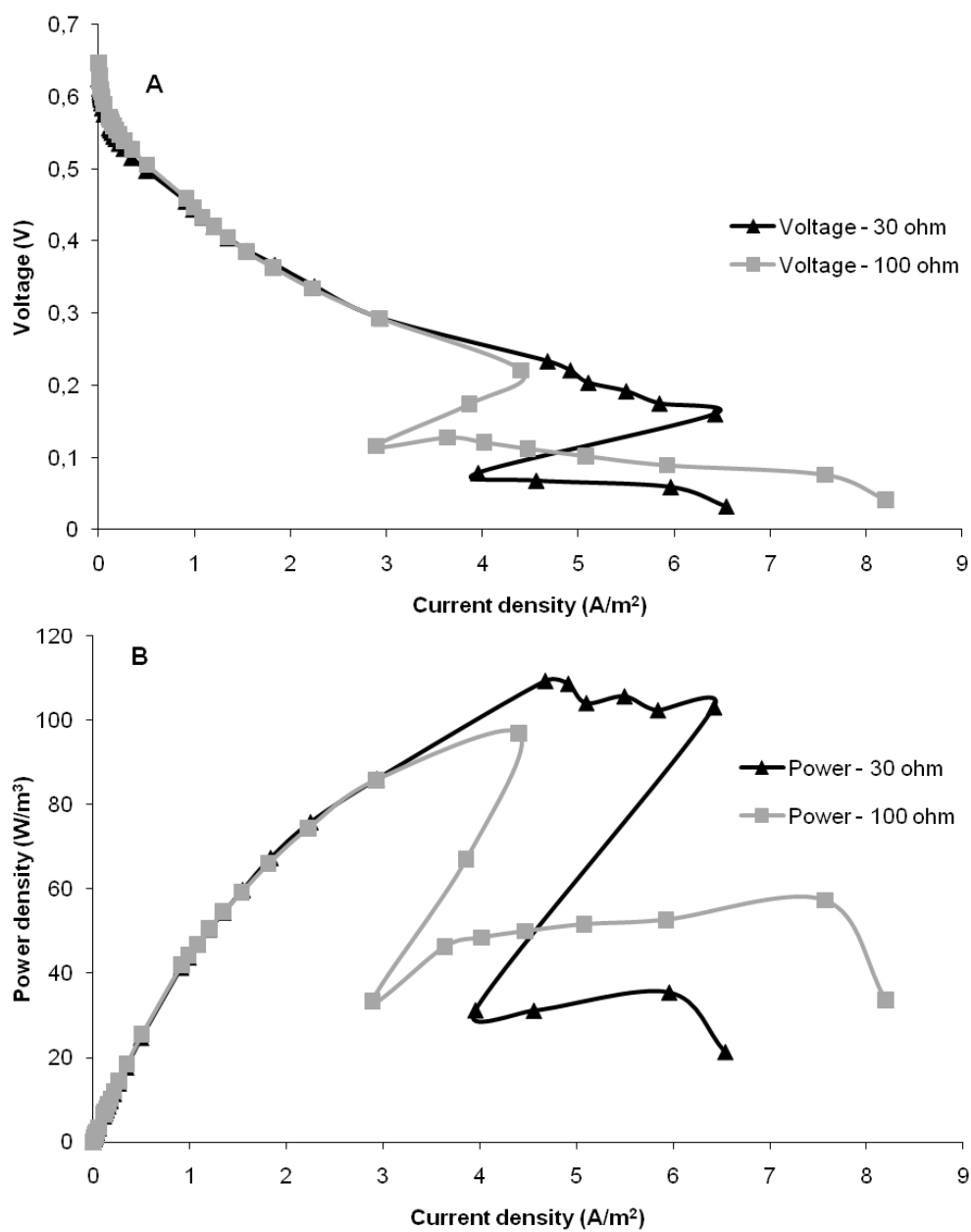


Figure 5-5: Polarization (A) and power (B) curves of MFC3 operated at R_{ext} of 30 and 100 Ω

Table 5.5: MFC3 anode resistance by EIS characterization under operational external load (R_{ext}) of 30 and 100 Ω during polarization curves

Resistance during polarization (Ω)	$R_{\text{ext}} = 30 \Omega$			$R_{\text{ext}} = 100 \Omega$		
	$R^{\text{ct}} (\Omega)$	$R_{\text{anode total}} (\Omega)$	Capacitance (mF)	$R^{\text{ct}} (\Omega)$	$R_{\text{anode total}} (\Omega)$	Capacitance (mF)
5000	$44,6 \pm 4,2$	$46,6 \pm 3,5$	422 ± 2	$51,2 \pm 9,8$	$52,8 \pm 9,6$	386 ± 12
200	$4,6 \pm 0,5$	$6,1 \pm 0,6$	517 ± 11	$4,3 \pm 0,1$	$5,4 \pm 0,4$	465 ± 6
70	$2,3 \pm 0,3$	$3,8 \pm 0,4$	555 ± 4	$2,4 \pm 0,3$	$3,9 \pm 0,6$	502 ± 31
20 ($\sim R_{\text{int}}$)	$1,3 \pm 0,1$	$2,8 \pm 0,2$	666 ± 29	$1,7 \pm 0,1$	$3,2 \pm 0,0$	620 ± 40

5.5 Discussion

5.5.1 MFC resistance evaluation

MFC and electrode resistances can be evaluated by taking the linear slope of polarization curves or from EIS measurements [20, 30]. However, from tables 5.2 to 5.5, we note that anodes resistances evaluated from polarization tests differ from the resistances measured by EIS, though in reasonable agreement at low external resistance. EIS measurements carried out during manual polarization of MFC3 can be used to explain this difference. R_{int} and R_{A} measured by polarization tests may be indicative of the MFC overall activity for an applied external load (R_{ext}) (table 5.4) [13, 18, 30] while resistances measured by EIS are function of V_{app} (table 5.5) [14, 20]. When the external resistance decreases, R_{s} and R^{oh} are constant throughout the test while the charge transfer in the activation loss region was relatively high and decreased in the ohmic loss region during the anode potential increase to finally reach the lowest R^{ct} at $R_{\text{ext}} \sim R_{\text{int}}$. Other works observed the same behavior while performing EIS measurements at different external loads [31] or applied cell voltages [20]. The R^{ct} decrease can be attributed to the anode potential increase along with current production, which induces an enhanced rate of acetate oxidation and electron transfer (thus an increased exchange current density).

5.5.2 Anodic secondary electrochemical process

Impedance studies on MFCs with carbon felt anode usually follow a one-time-constant model resulting of charge transfer resistance [14, 15, 20, 32] while our EIS measurements show two semi-circles. Control measurements carried out in a non-inoculated MFC with 1) deionized water and 2) microelements in distilled water showed no significant effect on high-frequency resistance. On the other hand, tests performed in the abiotic MFC with the complete influent showed a semi-circle not completely closed with a slightly lower width, which is similar to passive film formed onto electrodes that blocks reaction sites [25].

Ramasamy et al. [33], who observed similar EIS spectra, proposed that this high-frequency reaction may be caused by endogenously-produced redox mediators used as shuttle as well as metallic salts oxidation or reduction onto anodes. The results of our tests show that this secondary electrochemical process is only slightly more resistive with the biofilm growth. EIS measurements carried out during manual polarization using various resistances showed that R^{oth} was constant throughout the test while R^{ct} diminished with increasing anodic potential. Accordingly we may conclude that this process is not related to the charge transfer from microorganisms to the anode but to some secondary side reactions of the electrolyte species. Moreover, very low acetate concentration in MFC, probably resulting in acetate shortage at the electrode surface, decreases R^{oth} significantly. Carbon paper anode also showed this semi-circle, which exhibits a resistance 2-4 times greater than those obtained with the carbon felt. Hence from our findings, this secondary reaction is mainly related to these side reactions of the reduction and/or oxidation of salts present in the electrolyte (acetate, phosphates, chlorides), on the anode surface, which is also influenced by the anode surface area.

The decrease in the electrolyte conductivity results in the resistance increase of this secondary electrochemical process. Data fitting from our experimental results have shown clearly that this reaction is limited by a diffusion process that increases with low salts concentration. We may assume that the electrolyte conductivity is restraining this process by limiting the amount of ions flowing toward and away from the anode surface (*i.e.* mass transport limitation). Since salts and nutrients are not likely to be removed from the influent, this reaction will keep on occurring on both electrodes and will increase their resistances (*i.e.* parasitic reaction). This process most likely forms a resistive layer at the anode surface that is observed on cyclic voltammograms as

charging current (baseline seen before MFC inoculation, not shown), hence blocking reaction sites for electrode-reducing microorganisms [27].

5.5.3 Concentration losses – current density limitation

Standard polarization curves obtained in carbon felt anode MFCs, which are similar to curves in figure 5-1, show that MFCs suffer from activation, ohmic and concentration losses. From figure 5-1C we note that activation losses are more important at the cathode side while concentration losses are caused by anodic limitations. Cathodic activation losses can be minimized by increasing temperature, catalyst activity, O₂ concentration and cathode surface [3, 4, 23]. Ohmic losses are greatly influenced by MFCs design [34], though they are lessened in our MFCs since no polymeric exchange membrane is used, the distance between electrodes is minimized and the electrolyte conductivity is relatively high. Anodic concentration losses are important in our MFCs starting at a saturation current density and/or anodic potential depending on organic load rates and external load. A lack of this saturation is common in MFCs with low cathodic activity or high ohmic resistance, where the process is not limited by anodes performance [17].

The resistance caused by the substrate diffusion limitation observed in the EIS spectrum was noticed at the lowest organic load rate (figure 5-2B) and at low electrolyte conductivity in carbon felt MFCs. The first phenomenon probably happened because of an acetate shortage at the anode surface due to a low substrate feeding. The second one is most likely caused by small acetate concentration inside the porous electrode as illustrated in figure 5-4D, either because of low diffusion rate due to low electrolyte conductivity inside biofilm pores or acetate shortage because of complete substrate consumption by non electroactive species. These observations agree with a study mentioning the effect of insufficient acetate concentration in bulk electrolyte, low substrate penetration and mass transfer coefficient causing small substrate concentration near the anode surface [35]. Acetate shortage to microorganisms is not likely responsible for concentration losses since high acetate concentration in MFC1 and MFC2, maintained for more than two days, also led to this limitation behavior. A previous study stated that limiting current density was assumed to be reflecting maximal biomass activity on flat electrodes and was not linked to substrate limitation [36]. However EIS measurements carried out during manual polarization in the mass transfer loss region showed diffusion-limited behavior.

The present study showed saturation potentials of -380 to -360 mV for carbon felt anode and -330 mV for carbon paper anode, potentials over which concentration losses appeared during polarization. Previous studies mentioned that potential affinity of electrode-reducing microorganisms between potentials of -450 and -300 mV vs Ag/AgCl indicates that bacteria prefer a particular anodic potential rather than being most active at a more positive anodic potential [37, 38]. In addition, Aelterman *et al.* hypothesized that an enzymatic system only adapted to anode potentials lower than -300mV may be the cause of sharp current decrease during polarization [39]. This critical anodic potential appears if the biochemical electron flow was saturated by the availability of the terminal electron acceptor (oxidized mediators or anode itself).

On the other hand, it has been hypothesized that this current decrease could arise because of a lower enzymatic rate of the metabolism [39]. High acetate load implicates more protons generated that hinder anode-reducing microorganisms by products accumulation in biofilm (protons, oxidized intermediates), which may change redox conditions or cause acidification that hampers the metabolic activity in the biofilm [6, 18]. As well, it has been shown that the flux of protons generated within the biofilm from microbial oxidation limits the rate of electron transfer in biofilms [9, 10, 40, 41]. Protons diffusion out of biofilm has been shown to be linked to H_2PO_4^- diffusion. At higher current densities, diffusion rate of protons out of the biofilm is much lower than microbial protons generation, causing micro-environmental pH decrease and hence inhibiting microbial acetate uptake that becomes the rate limiting step [10, 41]. An increase of buffer concentration augmented proton diffusion that increased maximal achievable current density and power [10, 30]. The effect of proton accumulation in biofilm is supported by results obtained in this study. As seen on figure 5-4, high acetate concentration induced more diffusion-limited anodic reaction. In addition, polarization tests performed before cyclic voltammetry led to higher current generation than if the test sequence was inverted, which can be explained by increased proton accumulation in biofilm during voltammetry causing metabolic activity inhibition in subsequent testing. Hence, diffusion limitations are not believed to be related to substrate availability but caused by a significant increase of protons generation, signifying that diffusion-limited behavior in concentration losses region observed in EIS measurements are related to protons excess causing an electroactive species (cytochromes or mediators) deficiency since acetate uptake was hindered.

Current density either stabilizes or slightly increases in the concentration loss region after its abrupt diminution in polarization tests performed with a potentiostat. During manual polarization this behavior results in current generation that can overcome i_{\max} observed before concentration losses (figure 5-5). As significant charge storage is known to exist in bacteria and biofilm (in cytochromes) and in double-layer (capacitance effect) [29, 34, 37, 42], we may hypothesize that reaching maximal current density has emptied charge storage and that after sudden current decrease electrons are then delivered from microorganisms at smaller rates because of significant proton stock in biofilm. Slower acquisition of polarization measurements permits enhanced proton diffusion out of biofilm, hence increasing current density. In addition, MFC operated at higher R_{ext} resulted in lower anode-reducers activity as can be noticed from capacitances (table 5.5), thus less acetate consumption and lower protons generation leading to higher current density production (figure 5-5). However, this behavior indicates that anode potential is not the major influence on concentration losses since high current densities were as well observed at anodic potential between -215 and -175 mV in MFC operated at 30 Ω .

5.5.4 Electron transfer mechanism and limitations

Electron transfer performed by direct contact and extracellular membrane-bound cytochromes through a conductive matrix is thought to be the dominant charge transfer mechanisms since even with no acetate in the electrolyte, redox peaks are seen and current density does not decrease to levels observed before MFCs inoculation. Moreover, injection of substrate into the MFCs immediately affected current production, which increased almost to its level before acetate exhaustion in 7-8 minutes, as observed with *Geobacter sp.* [43]. Previous tests (not shown) performed with anodic biofilm suspensions proved that biofilm formation was required in order to observe substantial redox response. Kinetic evaluation supports this assumption as conduction through solid matrix can lead to current densities over 10 A m⁻² [41], close to currents generated in our carbon felt based MFCs. We assume the redox system to be related to *Geobacter*, an electricigenic species well known for direct electron transfer through membrane-bound cytochromes and pili [19, 44, 45], this hypothesis being supported by other studies that observed redox system of pure culture of *Geobacter sp.* or *Geobacter* enriched mixed culture in MFCs at about the same potential during voltammetry [9, 28, 46, 47].

Anode characterization after platinum cathodes evaluation supports the electron transport mechanism by mean of membrane-bound cytochromes in a conductive matrix. Cathode testing has been carried out using anodes as counter electrode during EIS and CV. Pt investigations produced high current at the counter electrode that damaged significantly the anodic biofilm. Current produced after damage was approximately half when compared to previous generated current. Cyclic voltammetry performed to assess how redox process was affected showed E_{redox} increase from -300 to -200 mV vs Ag/AgCl (figure 5-6). We may assume that part of anode-reducing biofilm was destroyed; thus charge transfer had to take place at a much lower catalytic activity, explaining low current density and E_{redox} increase. Anodic biofilm was slowly but definitely regaining its activity over time, but more than a week was needed to get back to its previous performance. Even if direct contact charge transfer mechanism through cytochromes in solid conductive matrix have been assumed to be the main mechanism in our MFCs, it is known that mixed consortium shows high current density though showing lower coulombic efficiency since supplementary species are active while more substrate is deviated to non anode-reducers microorganisms present in the inoculum [5, 43]. The combination of the effect of microorganisms and the mechanisms of the charge transfer at the electrode-electrolyte interface may lead to rather complex electrochemical behavior [5] and may not have been clearly separated in our experiments.

From figure 5-3, we note that the reduction of the redox system produces two peaks at the beginning of the acetate depletion experiment at slow scan rates, while this behavior is not observed at higher scan rates (results not shown). This behavior is related to the reactants availability, where those that have not been oxidized or have been produced meanwhile by the bacteria are oxidized until their depletion, and then return to reduction is noted again. While substrate exhaustion, less acetate in the biofilm leads to lower reactants and products generation by microorganisms during voltammetry and no oxidation peaks is observed during cathodic sweep after 6 hours of substrate exhaustion. A similar observation has also been noticed in studies with *Geobacter sp.* [9, 28, 46] where only an oxidation peak is observed at very slow scan rates. An explanation is that mediators are oxidized at the anode surface at the same rate than microorganisms can reduce them, hence producing no reduction peak during slow scan rates voltammetry. At higher scan rates, oxidized species are produced at the anode surface at higher rates than microbial metabolism are able to reduce them, reduction reaction thus takes place [9].

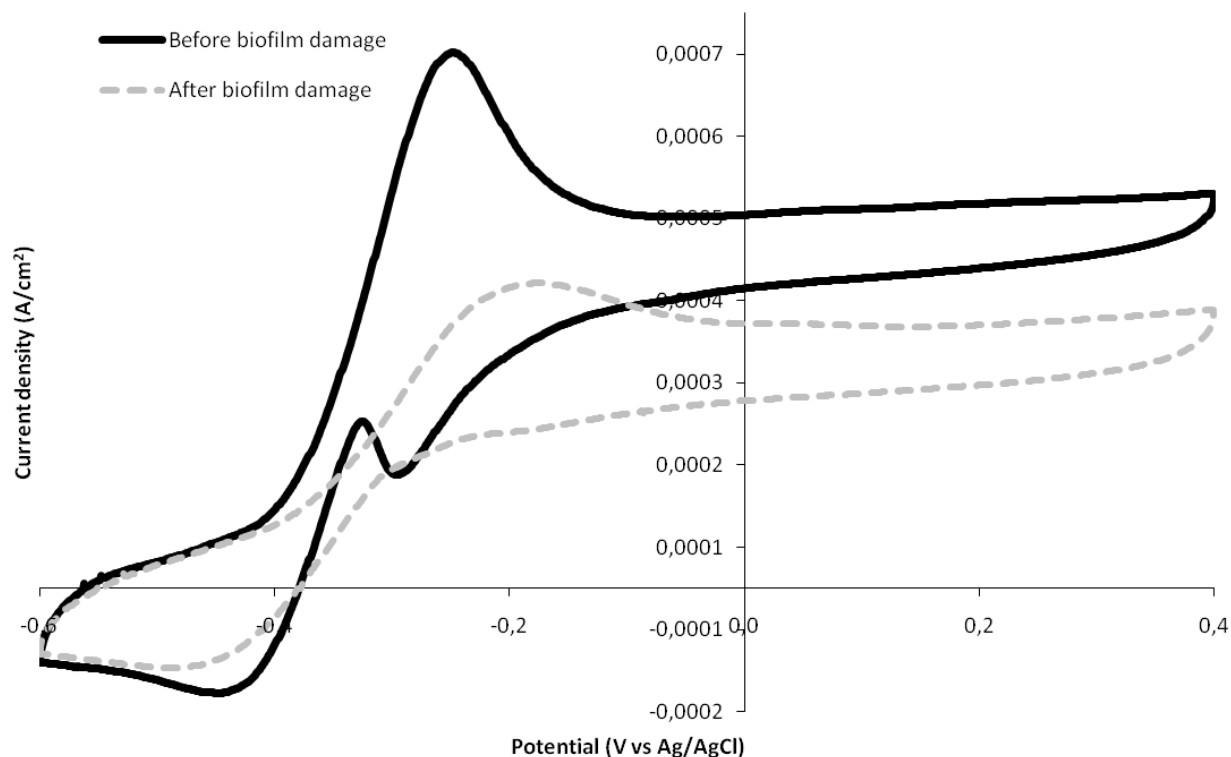


Figure 5-6: Cyclic voltammograms of MFC3 before and after biofilm damage caused by high cathodic counter current generation (scan rate of 5 mV s^{-1})

In our study we have found that a significant decrease in the scan rate causes an important increase of the effect of returning back to the oxidation state and some reduction peaks were always observed (figure 5-6, before damage). This suggests that our MFCs are working with biofilms possessing a lower catalytic activity than pure *Geobacter sp.* biofilm. On the other hand, this behavior may as well be explained by an enhancement of the proton accumulation in the biofilm influencing the anode behavior: higher scan rates causes a significant increase of the current generation, leading to a higher proton accumulation in the biofilm which hampers acetate uptake. Thus, a decrease of anode-reducers activity would as well result in no oxidation peak apparition during cathodic sweeping.

5.6 Conclusion

The present work showed that multiple electrochemical techniques can be used to evaluate properly the MFCs performance and limitations with respect to organic load rates, external load and electrolyte conductivity. Main limitations observed at the anode were caused by the presence

of a secondary electrochemical process linked to the electrolyte salts that increases its resistance, and to the concentration losses most likely caused by acetate uptake hindering because of enhanced protons production at high current densities. The increase in the electrolyte buffering capacity accompanied by a better anode design (multiple anodes with lower thickness, superior flow-through anode) may improve proton diffusion out of biofilm and will decrease the concentration losses, thus generating higher MFCs current and power densities.

5.7 Acknowledgement

This work was supported by NSERC and NRC Canada (NRC publication no 00000).

5.8 References

- [1] Du, Z., Li, H. and Gu, T., A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. *Biotechnology Advances*, 2007. 25(5): p. 464-482.
- [2] Logan, B.E., *Microbial fuel cells*. 2008, Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. 200.
- [3] Rismani-Yazdi, H., Carver, S.M., Christy, A.D. and Tuovinen, O.H., Cathodic limitations in microbial fuel cells: An overview. *Journal of Power Sources*, 2008. 180(2): p. 683-694.
- [4] Zhao, F., Harnisch, F., Schroder, U., Scholz, F., Bogdanoff, P. and Herrmann, I., Challenges and Constraints of Using Oxygen Cathodes in Microbial Fuel Cells. *Environmental Science & Technology*, 2006. 40(17): p. 5193-5199.
- [5] Schroder, U., Anodic electron transfer mechanisms in microbial fuel cells and their energy efficiency. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2007. 9(21): p. 2619-2629.
- [6] Pham, T.H., Aelterman, P. and Verstraete, W., Bioanode performance in bioelectrochemical systems: recent improvements and prospects. *Trends in Biotechnology*, 2009. 27(3): p. 168-178.
- [7] Min, B., Román, Ó. and Angelidaki, I., Importance of temperature and anodic medium composition on microbial fuel cell (MFC) performance. *Biotechnology Letters*, 2008. 30(7): p. 1213-1218.

- [8] Nam, J.-Y., Kim, H.-W., Lim, K.-H., Shin, H.-S. and Logan, B.E., Variation of power generation at different buffer types and conductivities in single chamber microbial fuel cells. *Biosensors and Bioelectronics*, 2010. 25(5): p. 1155-1159.
- [9] Richter, H., Nevin, K.P., Jia, H., Lowy, D.A., Lovley, D.R. and Tender, L.M., Cyclic voltammetry of biofilms of wild type and mutant *Geobacter sulfurreducens* on fuel cell anodes indicates possible roles of OmcB, OmcZ, type IV pili, and protons in extracellular electron transfer. *Energy & Environmental Science*, 2009. 2(5): p. 506-516.
- [10] Torres, C., I. , Marcus, A.K. and Rittmann, B., E., Proton transport inside the biofilm limits electrical current generation by anode-respiring bacteria. *Biotechnology and Bioengineering*, 2008. 100(5): p. 872-881.
- [11] Borole, A., P. , Hamilton, C., Y. , Aaron, D., S. and Tsouris, C., Investigating microbial fuel cell bioanode performance under different cathode conditions. *Biotechnology Progress*, 2009. 25(6): p. 1630-1636.
- [12] Mohan, S.V., Raghavulu, S.V., Peri, D. and Sarma, P.N., Integrated function of microbial fuel cell (MFC) as bio-electrochemical treatment system associated with bioelectricity generation under higher substrate load. *Biosensors and Bioelectronics*, 2009. 24(7): p. 2021-2027.
- [13] Aelterman, P., Versichele, M., Marzorati, M., Boon, N. and Verstraete, W., Loading rate and external resistance control the electricity generation of microbial fuel cells with different three-dimensional anodes. *Bioresource Technology*, 2008. 99(18): p. 8895-902.
- [14] Manohar, A.K., Bretschger, O., Nealson, K.H. and Mansfeld, F., The use of electrochemical impedance spectroscopy (EIS) in the evaluation of the electrochemical properties of a microbial fuel cell. *Bioelectrochemistry*, 2008. 72(2): p. 149-154.
- [15] He, Z. and Mansfeld, F., Exploring the use of electrochemical impedance spectroscopy (EIS) in microbial fuel cell studies. *Energy & Environmental Science*, 2009. 2(2): p. 215-219.
- [16] Manohar, A.K., Bretschger, O., Nealson, K.H. and Mansfeld, F., The polarization behavior of the anode in a microbial fuel cell. *Electrochimica Acta*, 2008. 53(9): p. 3508-3513.
- [17] Logan, B.E., Hamelers, B., Rozendal, R., Schroder, U., Keller, J., Freguia, S., Aelterman, P., Verstraete, W. and Rabaey, K., Microbial Fuel Cells: Methodology and Technology. *Environ. Sci. Technol.*, 2006. 40(17): p. 5181-5192.

- [18] Clauwaert, P., Aelterman, P., Pham, T., De Schamphelaire, L., Carballa, M., Rabaey, K. and Verstraete, W., Minimizing losses in bio-electrochemical systems: the road to applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2008. 79(6): p. 901-913.
- [19] Debabov, V., Electricity from microorganisms. *Microbiology*, 2008. 77(2): p. 123-131.
- [20] Manohar, A.K. and Mansfeld, F., The internal resistance of a microbial fuel cell and its dependence on cell design and operating conditions. *Electrochimica Acta*, 2009. 54(6): p. 1664-1670.
- [21] Jadhav, G.S. and Ghangrekar, M.M., Performance of microbial fuel cell subjected to variation in pH, temperature, external load and substrate concentration. *Bioresource Technology*, 2009. 100(2): p. 717-723.
- [22] Gil, G.-C., Chang, I.-S., Kim, B.H., Kim, M., Jang, J.-K., Park, H.S. and Kim, H.J., Operational parameters affecting the performance of a mediator-less microbial fuel cell. *Biosensors and Bioelectronics*, 2003. 18(4): p. 327-334.
- [23] Martin, E., Savadogo, O., Guiot, S.R. and Tartakovsky, B., The influence of operational conditions on the performance of a microbial fuel cell seeded with mesophilic anaerobic sludge. *Biochemical Engineering Journal*, 2010. 51(3): p. 132-139.
- [24] Tartakovsky, B. and Guiot, S.R., A Comparison of Air and Hydrogen Peroxide Oxygenated Microbial Fuel Cell Reactors. *Biotechnology Progress*, 2006. 22(1): p. 241-246.
- [25] Barsoukov, E. and Macdonald, J.R., *Impedance Spectroscopy - Theory, Experiment, and Applications*. 2005, Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. 595.
- [26] Gabrielli, C., *Identification of electrochemical processes by frequency response analysis*. 1998, Solartron Analytical.
- [27] Bard, A.J. and Faulkner, L.R., *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. 2nd ed. 2001, Toronto: John Wiley & Sons, Inc. 833.
- [28] Fricke, K., Harnisch, F. and Schroder, U., On the use of cyclic voltammetry for the study of anodic electron transfer in microbial fuel cells. *Energy & Environmental Science*, 2008. 1: p. 144-147.

- [29] Freguia, S., Rabaey, K., Yuan, Z. and Keller, J.r., Electron and Carbon Balances in Microbial Fuel Cells Reveal Temporary Bacterial Storage Behavior During Electricity Generation. *Environmental Science & Technology*, 2007. 41(8): p. 2915-2921.
- [30] Fan, Y., Sharbrough, E. and Liu, H., Quantification of the Internal Resistance Distribution of Microbial Fuel Cells. *Environmental Science & Technology*, 2008. 42(21): p. 8101-8107.
- [31] Ramasamy, R.P., Ren, Z., Mench, M.M. and Regan, J., Microbial Fuel Cells for Wastewater Treatment. *ECS Transactions*, 2008. 11(32): p. 115-125.
- [32] Ramasamy, R., P., Ren, Z., Mench, M., M. and Regan, J., M. , Impact of initial biofilm growth on the anode impedance of microbial fuel cells. *Biotechnology and Bioengineering*, 2008. 101(1): p. 101-108.
- [33] Ramasamy, R., P. , Gadhamshetty, V., Nadeau, L., J. and Johnson, G., R. , Impedance spectroscopy as a tool for non-intrusive detection of extracellular mediators in microbial fuel cells. *Biotechnology and Bioengineering*, 2009. 104(5): p. 882-891.
- [34] Liang, P., Huang, X., Fan, M.-Z., Cao, X.-X. and Wang, C., Composition and distribution of internal resistance in three types of microbial fuel cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2007. 77(3): p. 551-558.
- [35] Mudliar, S., Banerjee, S., Vaidya, A. and Devotta, S., Steady state model for evaluation of external and internal mass transfer effects in an immobilized biofilm. *Bioresource Technology*, 2008. 99(9): p. 3468-3474.
- [36] ter Heijne, A., Hamelers, H.V.M., Saakes, M. and Buisman, C.J.N., Performance of non-porous graphite and titanium-based anodes in microbial fuel cells. *Electrochimica Acta*, 2008. 53(18): p. 5697-5703.
- [37] Cheng, K.Y., Ho, G. and Cord-Ruwisch, R., Affinity of Microbial Fuel Cell Biofilm for the Anodic Potential. *Environmental Science & Technology*, 2008. 42(10): p. 3828-3834.
- [38] Lee, H.-S., Torres, C.s.I. and Rittmann, B.E., Effects of Substrate Diffusion and Anode Potential on Kinetic Parameters for Anode-Respiring Bacteria. *Environmental Science & Technology*, 2009. 43(19): p. 7571-7577.

- [39] Aelterman, P., Freguia, S., Keller, J., Verstraete, W. and Rabaey, K., The anode potential regulates bacterial activity in microbial fuel cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2008. 78(3): p. 409-418.
- [40] Franks, A.E., Nevin, K.P., Jia, H., Izallalen, M., Woodard, T.L. and Lovley, D.R., Novel strategy for three-dimensional real-time imaging of microbial fuel cell communities: monitoring the inhibitory effects of proton accumulation within the anode biofilm. *Energy & Environmental Science*, 2009. 2(1): p. 113-119.
- [41] Torres, C., I. , Marcus, A.K., Lee, H.-S., Parameswaran, P., Krajmalnik-Brown, R. and Rittmann, B., E. , A kinetic perspective on extracellular electron transfer by anode-respiring bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 2009. 34(1): p. 3-17.
- [42] Lovley, D.R., The microbe electric: conversion of organic matter to electricity. *Current Opinion in Biotechnology*, 2008. 19(6): p. 564-571.
- [43] Ishii, S.i., Watanabe, K., Yabuki, S., Logan, B.E. and Sekiguchi, Y., Comparison of Electrode Reduction Activities of *Geobacter sulfurreducens* and an Enriched Consortium in an Air-Cathode Microbial Fuel Cell. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2008. 74(23): p. 7348-7355.
- [44] Bond, D.R. and Lovley, D.R., Electricity Production by *Geobacter sulfurreducens* attached to Electrodes. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003. 69(3): p. 1548-1555.
- [45] Reguera, G., Nevin, K.P., Nicoll, J.S., Covalla, S.F., Woodard, T.L. and Lovley, D.R., Biofilm and Nanowire Production Leads to Increased Current in *Geobacter sulfurreducens* Fuel Cells. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2006. 72(11): p. 7345-7348.
- [46] Srikanth, S., Marsili, E., Flickinger, M., C. and Bond, D., R. , Electrochemical characterization of *Geobacter sulfurreducens* cells immobilized on graphite paper electrodes. *Biotechnology and Bioengineering*, 2008. 99(5): p. 1065-1073.
- [47] Liu, Y., Harnisch, F., Fricke, K., Schröder, U., Climent, V. and Feliu, J.M., The study of electrochemically active microbial biofilms on different carbon-based anode materials in microbial fuel cells. *Biosensors and Bioelectronics*, 2010. 25(9): p. 2167-2171.

CHAPITRE 6 CATHODE MATERIALS EVALUATION IN MICROBIAL FUEL CELLS: A COMPARISON OF CARBON, Mn_2O_3 , Fe_2O_3 AND PLATINUM MATERIALS

Article soumis à *Electrochimica Acta* en février 2011

Auteurs : Edith Martin, Boris Tartakovsky et Oumarou Savadogo

6.1 Abstract

In this work the oxygen reduction reaction (ORR) catalytic activity of Fe_2O_3 and Mn_2O_3 nanopowders, and carbon black powder were compared and their activity evaluated against that of a Pt-cathode in an air-cathode microbial fuel cell (MFC) using several electrochemical techniques. Cathodic total resistances determined by impedance spectroscopy were 9,6, 7,8, 7,6 and 21,6 Ω for Pt, Mn_2O_3 , Fe_2O_3 and C, respectively. Although the Mn_2O_3 cathode had the lowest resistance, the highest power output in polarization tests was observed for Pt, followed by Mn_2O_3 , Fe_2O_3 and C. The corresponding volumetric power outputs were 90, 32, 15 and 8 W/m^3 . The ORR onset potentials determined using cyclic voltammetry have shown values of 783, 844, 696 and 562 mV vs Ag/AgCl for Pt, Mn_2O_3 , Fe_2O_3 and C, respectively. Therefore, Mn_2O_3 exhibited the best ORR potential, whereas Pt exhibited the best volumetric power output. All MFCs showed a performance decline with time, most likely due to the loss of the catalyst, catalyst deactivation, or parasitic reactions. The C cathodes showed the most stable behavior. In all tests, a microbially catalyzed ORR (biocathode) was not observed. The Mn_2O_3 electrode appeared to be the most promising non-noble cathode catalyst material, however its high overpotential (activation loss) should be circumvented in order to increase significantly the power generation.

Keywords : microbial fuel cell, cathode materials, Mn_2O_3 , C, Fe_2O_3

6.2 Introduction

Microbial fuel cells provide an alternative method for simultaneous energy production and wastewater treatment. In a MFC consumption of organic compounds by microorganisms at the anode is accompanied by electron transfer to the anode and proton release. The protons flow

through the electrolyte and the electrons flow through the external circuit to reach the cathode, where they are used along with protons to accomplish oxygen reduction to water [1, 2].

The oxygen reduction reaction (ORR) is an energetically costly reaction because of a high overpotential barrier when performed on carbon or graphite electrodes, implying the need for catalysts like platinum (Pt). In a MFC, Pt can lose a lot of its activity due to side reactions and other losses [3-8]. Several alternatives have been proposed to replace Pt : manganese oxides [9, 10], polypyrrole (Ppy) [11], iron phthalocyanine (FePc) [12, 13], cobalt and iron-copper phthalocyanine (CoPc and FeCuPc) [13], cobalt tetramethoxyphenylporphyrin (CoTMPP) [12, 13], iron-cobalt tetramethoxyphenylporphyrin (FeCoTMPP) [13], Fe^{3+} cathode made with ferric sulfate [14], high surface area graphite-granules cathodes [8], and activated carbon [15-17]. Although manganese oxides, Ppy, FePc and CoTMPP show slightly less power generation than Pt, the low cost of these materials makes them a good replacement of Pt. Some carbon/graphite electrodes also exhibit a good performance as cathode materials, which also make them suitable alternatives as they are inexpensive in comparison to other noble and non-noble materials.

Various cathode-oxidizing microorganisms are known to be capable of electron transfer from cathodes to either nitrate (denitrification) [18, 19] or chromium (Cr^{4+}) [20, 21]. Oxygen and protons are other potential electron acceptors and a wide variety of microorganisms have demonstrated their ability to use it [22]. However the effect of microorganisms on the oxygen reduction reaction (ORR) requires further clarification [23], although cytochromes, hydrogenase enzymes and mediators are assumed to participate in this reaction [24]. Cathodic biofilms were observed to catalyze the ORR [25]. Mn^{4+} and Fe^{3+} reduction is an important part of biocathodic activity [2, 23]. Mn^{4+} reduction and Mn^{2+} oxidation is accomplished through several steps. The first step is the abiotic MnO_2 reduction to MnOOH by accepting one electron followed by the reduction of MnOOH to Mn^{2+} in solution by accepting a second electron. Mn^{2+} is then oxidized into MnO_2 by microorganisms that release two electrons to oxygen. Fe^{3+} reduction and Fe^{2+} oxidation is thought to work in a similar way as biological manganese transformation [20, 23]. Mn^{2+} and Fe^{2+} oxidation is a rate-limiting process [26, 27], however it could be accelerated due to microbial activity. Also, the materials used in this case may exhibit oxygen reduction to produce water using reactions similar to those with Pt catalyst [8, 28]. This work is aimed at studying cathode materials (e.g. C, Mn_2O_3 and Fe_2O_3) suitable for MFC applications.

6.3 Materials and methods

6.3.1 Cathode preparation

Catalysts based on Pt, Mn_2O_3 and Fe_2O_3 were supported using carbon powder. Pt nanoparticles supported on carbon (EC-20-PTC) were purchased from ElectroChem, Inc, Woburn, MA, USA. Mn_2O_3 and Fe_2O_3 nanopowders with purity of 98,5 and >98% respectively were obtained from Nanostructured & Amorphous Materials, Inc., Houston, TX, USA and the Vulcan XC-72 carbon black powder was from Cabot Corporation, Boston, MA, USA. The Mn_2O_3 and Fe_2O_3 structures have been confirmed by X-ray diffraction (XRD) and thermogravimetric (TGA) analyses. The carbon-supported Pt catalyst had a nominal Pt loading of 20 wt%. Manganese and iron oxide nanopowders had respective average particles sizes of 30-60 and 20-50nm and were both separately mixed with Vulcan powder to obtain an individual ratio of 20 wt% Mn_2O_3 and Fe_2O_3 . The catalyst inks were prepared from Pt/C, pure Vulcan carbon powder, $\text{Mn}_2\text{O}_3/\text{C}$ or $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{C}$ powders and mixed with a Nafion[®] NR 005 solution (DuPont, Wilmington, DE, USA) to obtain loadings of 1 mg cm^{-2} with a catalyst : Nafion (dry weight) ratio of 65:35 wt%. Mixtures were sonicated (B5500-A-MTH, VWR, West Chester, PA, USA) for one hour prior to their brush painting on $11 \times 6 \text{ cm}^2$, 175 μm -thick carbon fiber papers treated with a PTFE hydrophobic coating (AvCarb[™] P50T, Fuel Cell Store, San Diego, CA, USA). Cathodes were then air dried. At least 2 samples of 1 cm^2 were also made for each catalyst type in order to make half-cell electrochemical experiments.

6.3.2 MFC design and operation

A schematic diagram of the MFCs used for cathode testing is shown in Fig. 6-1. The anodes were made of $5 \times 10 \text{ cm}^2$, 5 mm-thick carbon felt (Speer Canada, Kitchener, ON, Canada). The electrodes were separated with J-cloth[®] providing a spacing of approximately 1 mm. The anode and cathode were connected through an external load (R_{ext}). A data acquisition card (LabJack U12, LabJack Corporation, Colorado, USA) was used to record MFC voltage. More details of MFC design and operation can be found elsewhere [29].

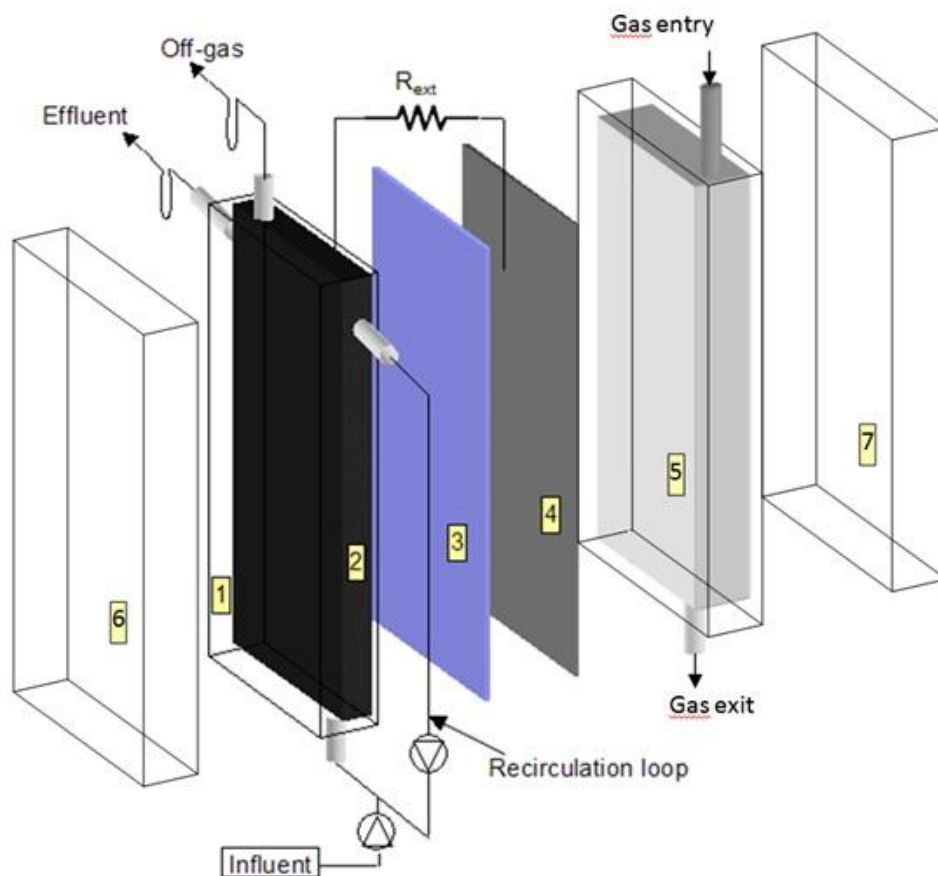


Figure 6-1: MFC setup diagram showing external resistance (R_{ext}), recirculation loop, influent and gas entries, effluent and gas exits, anodic windowed plate (1), anode (2), J-cloth[®] (3), cathode (4), cathodic windowed plate (5) and closing plates (6 and 7)

The MFCs were operated at room temperature in a continuous flow mode with a hydraulic retention time of 12 h. Liquid mixing was accomplished by a peristaltic pump in an external recirculation line. Sodium acetate and nutrients were combined in a single concentrated solution fed at a rate of 5 mL d^{-1} by a syringe pump (model NE-1000, New Era Pump Systems, Inc., Wantagh, NY, USA). 1 mL of microelements stock solution was added to each liter of dilution water provided at a rate of 100 mL day^{-1} with a peristaltic pump.

Four membraneless air-cathode MFCs with a mature anodic biofilm were used. MFCs were started up with commercial gas diffusion cathodes with a Pt loading of 0.5 mg cm^{-2} (E-TEK Division, PEMEAS Fuel Cell Technologies, Somerset, NJ, USA). Once the maximum power generation at an optimal external loading was reached, E-TEK cathodes were replaced with

laboratory-made cathodes and the MFCs were operated for two weeks to one month. Testing has been done in triplicate for each material type. In some tests the cathodic chamber was saturated with pure nitrogen for 24 hours and then with pure oxygen for 48 hours after MFC operation under the atmosphere of air.

6.3.3 Inoculum and media composition

The MFCs were inoculated with the effluent of another working MFC previously inoculated with homogenized anaerobic mesophilic sludge (VSS = 50 g L⁻¹, A. Lassonde Inc., Rougemont, Quebec, Canada). The stock solution of microelements contained (in g L⁻¹): FeCl₂·4H₂O (2), H₃BO₃ (0,05), ZnCl₂ (0,05), CuCl₂ (0,03), MnCl₂·4H₂O (0,5), (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O (0,05), AlCl₃ (0,05), CoCl₂·6H₂O (0,05), NiCl₂ (0,05), EDTA (0,5) and HCl (1μL). The feed stock solution contained (in g L⁻¹): yeast extract (0,83), NH₄Cl (18,68), KCl (148,09), K₂HPO₄ (64,04), KH₂PO₄ (40,69), and anhydrous sodium acetate (54,67).

6.3.4 Electrochemical measurements

The electrochemical impedance spectroscopy (EIS) tests were performed with a frequency response analyzer (FRA) (Model 1260A, Solartron Analytical, Hampshire, UK) connected to a potentiostat (Solartron 1470, Solartron Analytical, Hampshire, UK). ZPlot and ZView software (Solartron Analytical, Hampshire, UK) were used as potentiostat and FRA controller and for data analysis respectively. EIS experiments were carried out in a three-electrode mode, the cathode as the working electrode, the anode as the counter electrode and a 1 molar Ag/AgCl electrode (222 mV *vs* NHE) as the reference. The measurements were performed at cathode working potentials while MFCs were operated at a constant R_{ext} in order to study the cathode behavior during MFC operation. EIS tests were performed at an AC signal of 5 mV of amplitude, at 37 logarithmic frequency steps between 100 kHz and 5 mHz (duration of approximately 30 minutes).

The acquired EIS spectra of cathodes showed a three-time-constant model (three semi-circles). The low-frequency semi-circle is attributed to a cathodic charge transfer (ct) while the high-frequency semi-circles may be attributed to other various causes related to the electrolyte composition, or diffusion of the oxygen or protons in the electrolyte, or diffusion through a biofilm (oth 1 and 2). Hence, the electrical equivalent circuit presented in figure 6-2 was used to fit the data. Here, R_s is the solution resistance, R^{oth} is the resistances of further redox processes

and CPE^{oth} is the constant phase element, R_C^{ct} is the cathodic charge transfer resistance for oxygen reduction, and CPE^{ct} is the constant phase element related to charge transfer. Constant phase elements (CPE) are used instead of standard capacitances in the modeling because of the inhomogeneous conditions (roughness, porosity, distribution of reaction sites) [30]. Fitting the semi-circles with a CPE allows to account for the process capacitance and for the influence of diffusion and electrode structure.

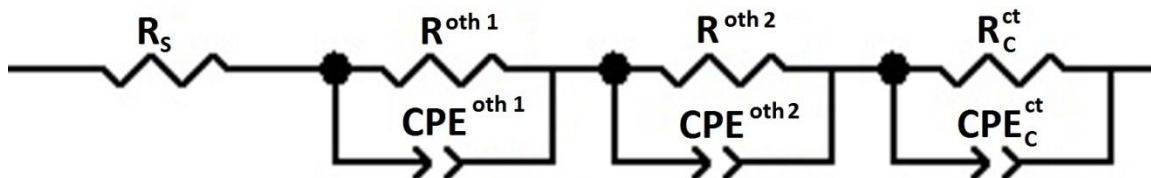


Figure 6-2: Three time constants equivalent circuit for EIS data fitting

Cyclic voltammetry (CV) was performed using a potentiostat (Solartron 1470, Solartron Analytical, Hampshire, UK) in a three-electrode mode. CorrWare and CorrView software (Solartron Analytical, Hampshire, UK) were used for potentiostat control and data analysis, respectively. Cathode and anode were used as working and counter electrodes, respectively. The reference electrode was a 1M Ag/AgCl electrode. Three cycles were carried out at scan rates of 5 mV s^{-1} at potential values varying between $-0,4$ and 1 V vs Ag/AgCl, depending on cathode atmosphere and cathode materials. Tafel slopes (b) were handled as being part of the overpotential (η) as shown in the following equation:

$$\eta = E_{OCP} - E_{work} = b \ln \frac{i}{i_0}$$

where E_{OCP} and E_{work} are cathode potentials at the open circuit and working voltages, respectively, i is the current produced at the working potential and i_0 is the limiting current.

Cyclic voltammetry was also performed in the half-cells under N_2 and O_2 atmospheres with non-colonized 1 cm^2 samples and with colonized 1 cm^2 samples taken from cathodes used during MFC operation. For the half-cell experiments, the samples were immersed in solutions similar to those used for MFC operation (acetate and dilution water) and were used as working electrodes, while a pure platinum grid was used as a counter electrode, the reference was a saturated calomel electrode (SCE, 241 mV vs NHE). The tests were performed at voltages between -1 and 1 V at a scan rate of 10 mV s^{-1} for three cycles.

Linear polarization and power curves were acquired with a potentiostat (Solartron 1470, Solartron Analytical, Hampshire, UK) controlling the cell voltage (E_{MFC}) while measuring the generated current (I), from open circuit voltage (OCV) to short circuit at a scan rate of 0,5mV/s. The anode was employed as the working electrode while the cathode was used as the counter and reference electrode. Anode and cathode potentials were measured against 1M Ag/AgCl references via a data acquisition card (LabJack U12, LabJack Corporation, Colorado, USA).

Power (P) was calculated as $P = E_{MFC} * I$. MFC voltage and power were plotted against current, to evaluate the MFC internal resistance (R_{int}) as the slope of the linear part of the polarization curve (E_{MFC} vs I), and the maximum power output (P_{max}) in the power curve. Anode and cathode potentials were also plotted against the current, which allowed for estimating anode and cathode resistances (R_A and R_C respectively) from the linear part of corresponding curves.

The cyclic voltammetry and polarization tests were periodically performed starting from the first day of cathode installation in MFCs to evaluate the cathode performance. Except for the first day of each test, the order of the electrochemical tests was as follows: EIS measurements at a working cathodic potential (V_{app}) was followed by voltage monitoring at open-circuit for one hour before carrying out cyclic voltammetry. The MFCs were then left in open-circuit again for one hour before performing the linear polarization test. The half-cell testing sequence consisted of: 1) solution flushing with N_2 for one hour at an open circuit potential (OCP); 2) performing 100 activation cycles at a scan rate of 100 mV s⁻¹ prior to carrying out cyclic voltammetry tests; and 3) O_2 flushing for 2 hours at OCP before repeating the CV tests.

6.3.5 Analytical methods and calculations

The acetic acid concentration in the effluent was measured by gas chromatography (GC) using an Agilent 6890 (Wilmington, DE) with a detection limit of 0,2 mg L⁻¹. Manganese and iron concentrations have been determined in MFC effluent and in half-cell test solutions by atomic absorption spectroscopy (AAnalyst 200, Perkin-Elmer, Waltham, MA, USA).

The apparent Coulombic efficiency (CE_A) calculation can be seen in a previous work [29]. The degradation efficiency was evaluated by calculating the chemical oxygen demand (COD) removal with the following formula:

$$\frac{M_{in} - M_{out}}{M_{in}} (\%) = \frac{(F_{in} \cdot C_{stock}) - (F_{out} \cdot C_{out})}{(F_{in} \cdot C_{stock})} \cdot 100\%$$

where F_{in} and F_{out} are respectively the stock solution and the effluent flow rates (L s^{-1}), and C_{stock} and C_{out} are the acetate concentration in stock solution and acetate concentration in effluent, respectively (g L^{-1}).

The efficiency of cathodes under ambient air and saturated O_2 atmospheres ($P_{cathode}^{atmosphere}$) was evaluated by measuring maximum power generation at each atmosphere and comparing these values with platinum performance in air (P_{Pt}^{air}) one day after cathode installation. The following equation was used:

$$Efficiency (\%) = \frac{P_{cathode}^{atmosphere}}{P_{Pt}^{air}} \cdot 100\%.$$

6.4 Results

Table 6.1 shows parameters obtained from electrochemical tests (EIS, CV and polarization tests) for all tested cathode materials and under different cathode atmospheres (air and O_2). Cathode performance is reported after approximately 1 and 10 days of electrode installation in the MFC. After installing new C, Fe_2O_3 , Mn_2O_3 and Pt cathodes, a slight decrease in overall MFC performance was observed (P_{max} and ORR decrease, and R_{int} , R_C augmentation). Since MFCs under nitrogen cathodic atmosphere showed negligible current (parasitic current), these results are not shown. When results of EIS measurements were used to estimate charge transfer (R_C^{ct}) and total (R_C^{total}) resistances of different cathode materials, it was noted that after 10 days of cathode operation carbon exhibits the highest resistance (21,6 Ω), while other materials show lower resistances between 7,6 to 9,6 Ω . Pt has a higher resistance than the oxides tested. Also, impedance tests demonstrate the positive effect of O_2 on cathode resistance. When N_2 is introduced in the cathode chamber, the cathode resistance increases significantly. From figure 6-3, we note a solution resistance varying between 1,5 and 2 Ω (where EIS spectra intersect with the abscissa in a high-frequency region). Further side processes account for approximately 0,6 to 1 Ω in the total cathodic resistance.

Table 6.1: Electrochemical parameters of cathodic materials under atmospheres of air and O₂

Materials	Atmosphere *	EIS		CV	Polarization			
		R _C ^{ct} (Ω)	R _C ^{total} (Ω)	ORR onset (mV)	P _{max} (W m ⁻³)	R _{int} (Ω)	R _C (Ω)	Relative efficiency (%)
C	Air (1 day)	19,8 ± 2,8	22,7 ± 2,1	640,4 ± 37,3	9,8 ± 0,2	43,7 ± 8,4	21,3 ± 4,5	10,2
	Air (10 days)	18,4 ± 0,3	21,6 ± 0,3	561,7 ± 9,0	8,1 ± 0,9	45,1 ± 8,1	18,9 ± 3,3	8,4
	O ₂	18,1 ± 2,4	21,4 ± 2,5	595,9 ± 11,2	12,7 ± 0,9	58,1 ± 13,3	25,4 ± 5,5	13,2
Fe ₂ O ₃	Air (1 day)	5,3 ± 0,0	7,2 ± 0,4	720,0 ± 5,3	18,9 ± 2,8	16,8 ± 0,9	6,6 ± 0,2	19,6
	Air (10 days)	5,7 ± 0,7	7,6 ± 1,0	695,8 ± 5,2	15,4 ± 4,7	21,2 ± 6,6	9,7 ± 4,6	16,0
	O ₂	4,1 ± 0,4	5,7 ± 0,4	724,6 ± 0,9	24,9 ± 5,4	17,1 ± 2,0	6,5 ± 0,0	25,9
Mn ₂ O ₃	Air (1 day)	5,6 **	7,7 **	817,4 ± 4,1	44,4 ± 0,1	7,2 ± 0,8	3,3 ± 0,8	46,2
	Air (10 days)	5,8 ± 0,4	7,8 ± 0,4	844,1 ± 3,1	31,7 ± 1,6	8,7 ± 0,3	4,4 ± 0,5	33,0
	O ₂	3,6 ± 0,4	5,9 ± 0,5	855,2 ± 3,3	45,1 ± 3,3	8,6 ± 0,5	4,0 ± 0,5	46,9
Pt	Air (1 day)	8,3 **	9,7 **	797,6 **	96,2 ± 6,3	18,5 ± 1,1	10,4 ± 0,4	100
	Air (10 days)	7,9 ± 0,3	9,6 ± 0,5	782,8 ± 10,2	89,5 ± 3,2	18,4 ± 0,9	10,9 ± 0,4	93,0
	O ₂	4,4 ± 0,5	5,8 ± 0,5	721,3 **	83,2 ± 2,9	19,7 ± 2,3	9,9 ± 1,8	86,5

* Parameters determined after 1 and 10 days for air and 13 days for O₂ atmospheres

** Average not available

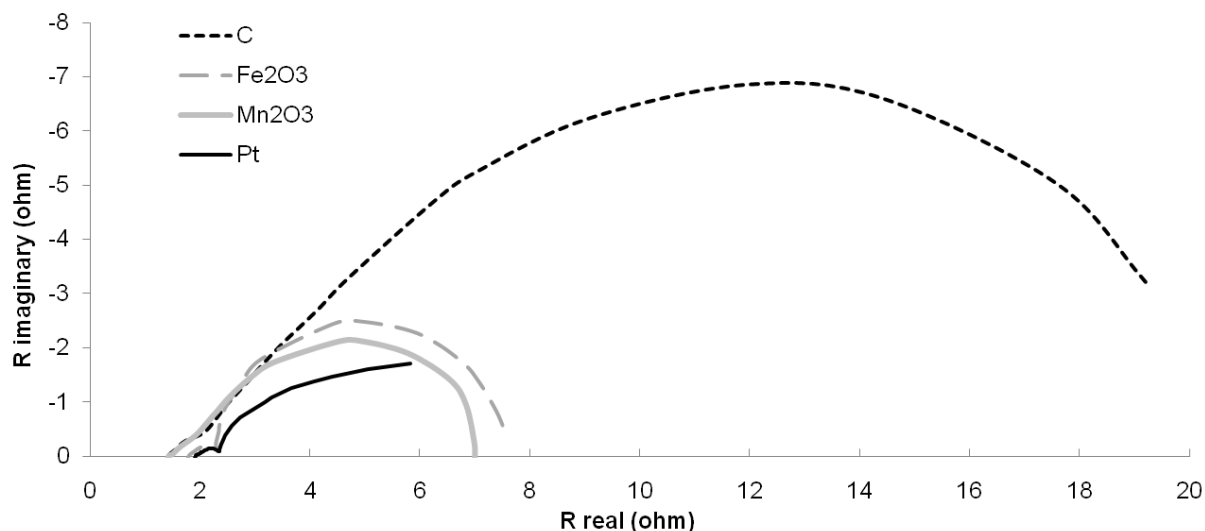


Figure 6-3: EIS spectra of cathodes inserted in MFCs

Cyclic voltammetry tests demonstrate that the oxygen reduction reaction (ORR) takes place at different potentials depending on cathodic materials, time and atmosphere. MFC testing in air after 10 days of cathode operation indicate that the ORR onset occurs at the highest potential for Mn_2O_3 (844 mV vs Ag/AgCl), followed by Pt, Fe_2O_3 and C (783, 696 and 562 mV vs Ag/AgCl, respectively) (Table 6.1 and Figure 6-4). Switching from an air to N_2 atmosphere decreases the ORR onset potential except in the case of Fe_2O_3 , where it increases. An O_2 atmosphere increases the ORR potential for Mn_2O_3 , Fe_2O_3 and C and decreases the potential for Pt when compared to air, but in all cases it increases ORR potentials when compared to N_2 . With time, the ORR decreases for all cathode materials except Mn_2O_3 where it increases (table 6.1, N_2 results not shown).

Half-cell cyclic voltammetry (Table 6.2) analysis showed slightly different results as the ORR onset potential was also observed to take place at the highest potential for Mn_2O_3 (837 mV vs Ag/AgCl), but this was followed by Fe_2O_3 (832 mV vs Ag/AgCl) in an O_2 saturated solution. Carbon was observed to exhibit a higher ORR onset potential than Pt in half-cell tests (834 and 746 mV vs Ag/AgCl, respectively). Under a nitrogen atmosphere, manganese oxide still shows the highest onset potential. It is followed by C, Fe_2O_3 and finally Pt. Overall, N_2 decreased the onset potential only for Mn_2O_3 and Pt in half-cell tests.

Table 6.2: ORR onset potentials of cathodic materials under atmospheres of O₂ and N₂ in a half-cell

Materials	Atmosphere	ORR onset (mV)
C	N ₂	834,3 ± 1,0
	O ₂	817,1 *
	O ₂ with biofilm	646,3 *
Fe ₂ O ₃	N ₂	832,3 ± 0,1
	O ₂	821,5 ± 6,8
	O ₂ with biofilm	765,5 *
Mn ₂ O ₃	N ₂	836,7 ± 2,2
	O ₂	850,7 ± 6,8
	O ₂ with biofilm	696,4 ± 3,4
Pt	N ₂	745,6 ± 13,5
	O ₂	765,8 ± 2,7
	O ₂ with biofilm	746,4 ± 36,9

* Average not available

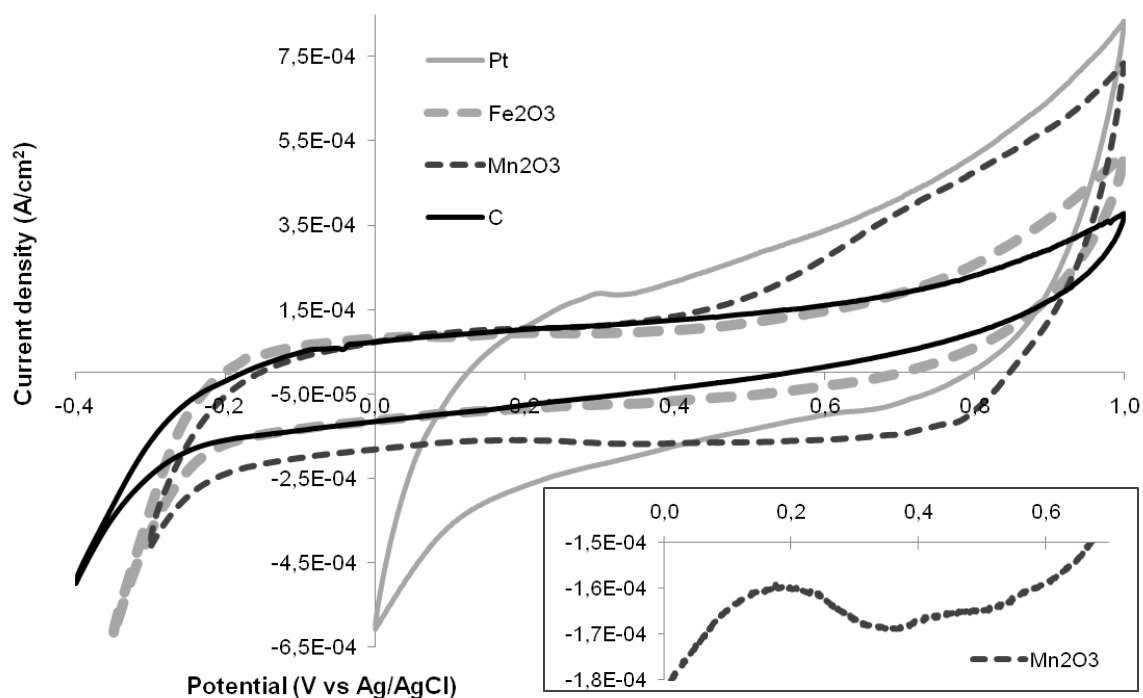


Figure 6-4: Voltammograms of cathode materials at 5 mV/s, 10 days after insertion (inset: Mn₂O₃ reduction peak into Mn²⁺)

As shown in Figure 6-5 and Table 6.1, the polarization tests confirmed the poor performance of carbon cathodes for the oxygen reduction reaction since these cathodes exhibit the lowest power density (8 W/m^3) and the highest cell, anode and cathode resistances (45, 25 and 19Ω respectively) after 10-days of testing in MFCs. On the other hand, Mn_2O_3 displays the lowest resistances but does not show the highest power generation, which is obtained with Pt cathodes (32 W/m^3 vs 90 W/m^3). Also, Pt and Fe_2O_3 give similar cell and electrode resistances, but their volumetric power output is significantly different. When the cathodic compartment is under an N_2 atmosphere, the MFCs show a negligible current production for all materials. In contrast, power generation increases in an O_2 atmosphere for C, Fe_2O_3 and Mn_2O_3 catalysts while the cathode resistances decrease for Fe_2O_3 , Mn_2O_3 and Pt catalysts. A comparison of the polarization curves for different cathode atmospheres is shown in Figure 6-6.

Overpotentials were evaluated for each cathode material after a 10-day cathode test in a MFC. Overpotentials of 179,0, 239,2, 400,6 and 284,0 mV were obtained for C, Fe_2O_3 , Mn_2O_3 and Pt cathodes respectively. Hence, the Mn_2O_3 catalyst shows the highest potential loss between the cell open circuit and working voltages.

An evaluation of MFC efficiencies after the first day of MFC operation with C, Fe_2O_3 and Mn_2O_3 cathode catalysts showed efficiencies of 10,2%, 19,6% and 46,2%, respectively when compared to a Pt cathode in air at the same period (Table 6.1). After 10 days of MFC operation the efficiency declined of 17,3%, 18,5%, 28,6% and 7,0% for C, Fe_2O_3 , Mn_2O_3 and Pt cathodes, respectively. Also, MFC operation under an O_2 atmosphere in the cathode chamber gave efficiencies of 13,2%, 25,9%, 46,9% and 86,5% for C, Fe_2O_3 , Mn_2O_3 and Pt, respectively, in comparison to the highest power generated by Pt.

COD removal and Coulombic efficiency calculations agreed with the results of the polarization tests (Table 6.3). Pt cathodes demonstrate the highest efficiencies for acetate removal and utilization for electricity generation in an air atmosphere, followed by Mn_2O_3 , Fe_2O_3 and C cathode materials. As expected, an N_2 atmosphere causes a significant decrease in COD removal and CE (data not shown). However, an oxygen atmosphere enhances COD removal and CE for C, Fe_2O_3 and Mn_2O_3 cathodes.

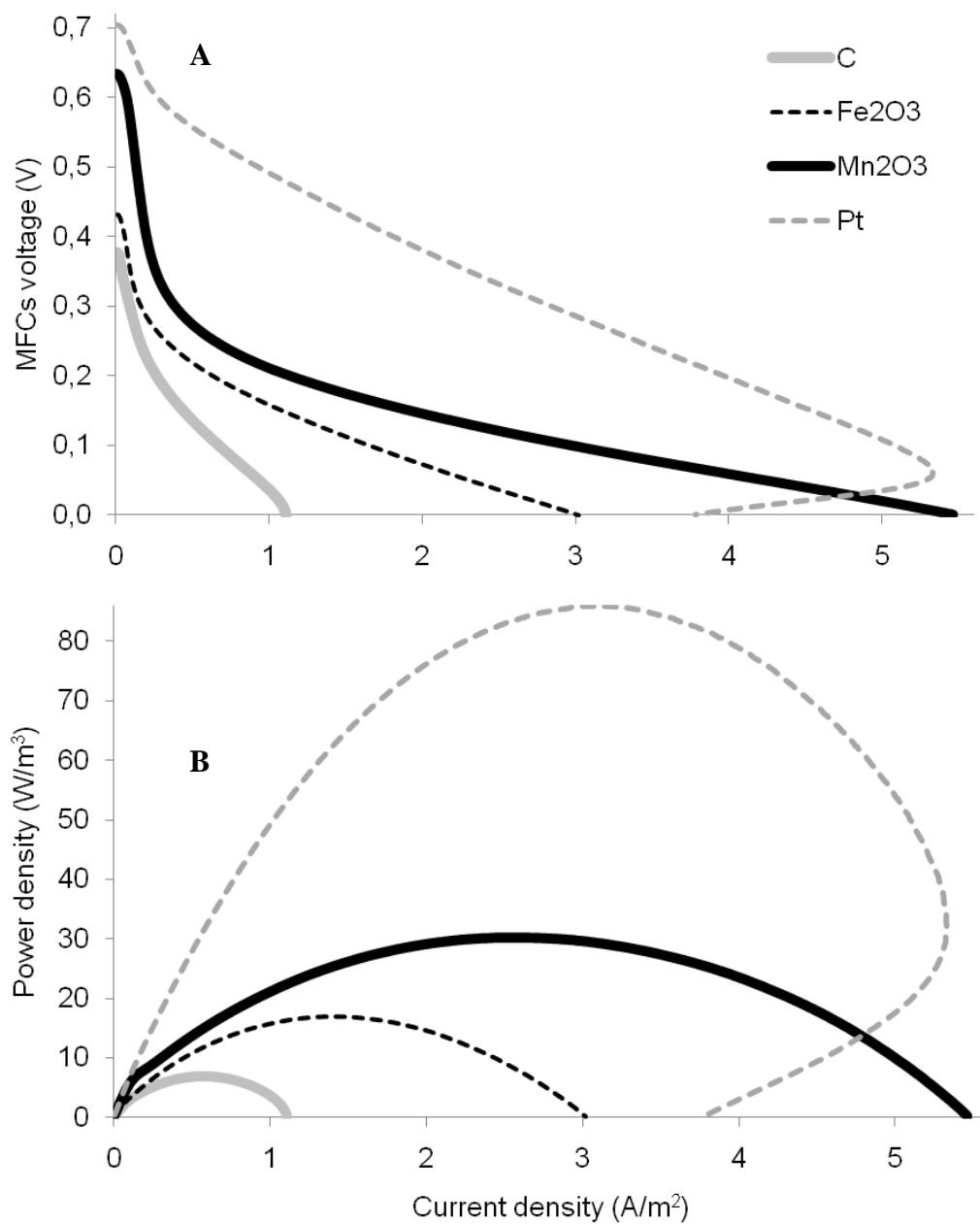


Figure 6-5: Polarization (A) and power (B) curves of cathodic materials in air 10 days after insertion in MFCs

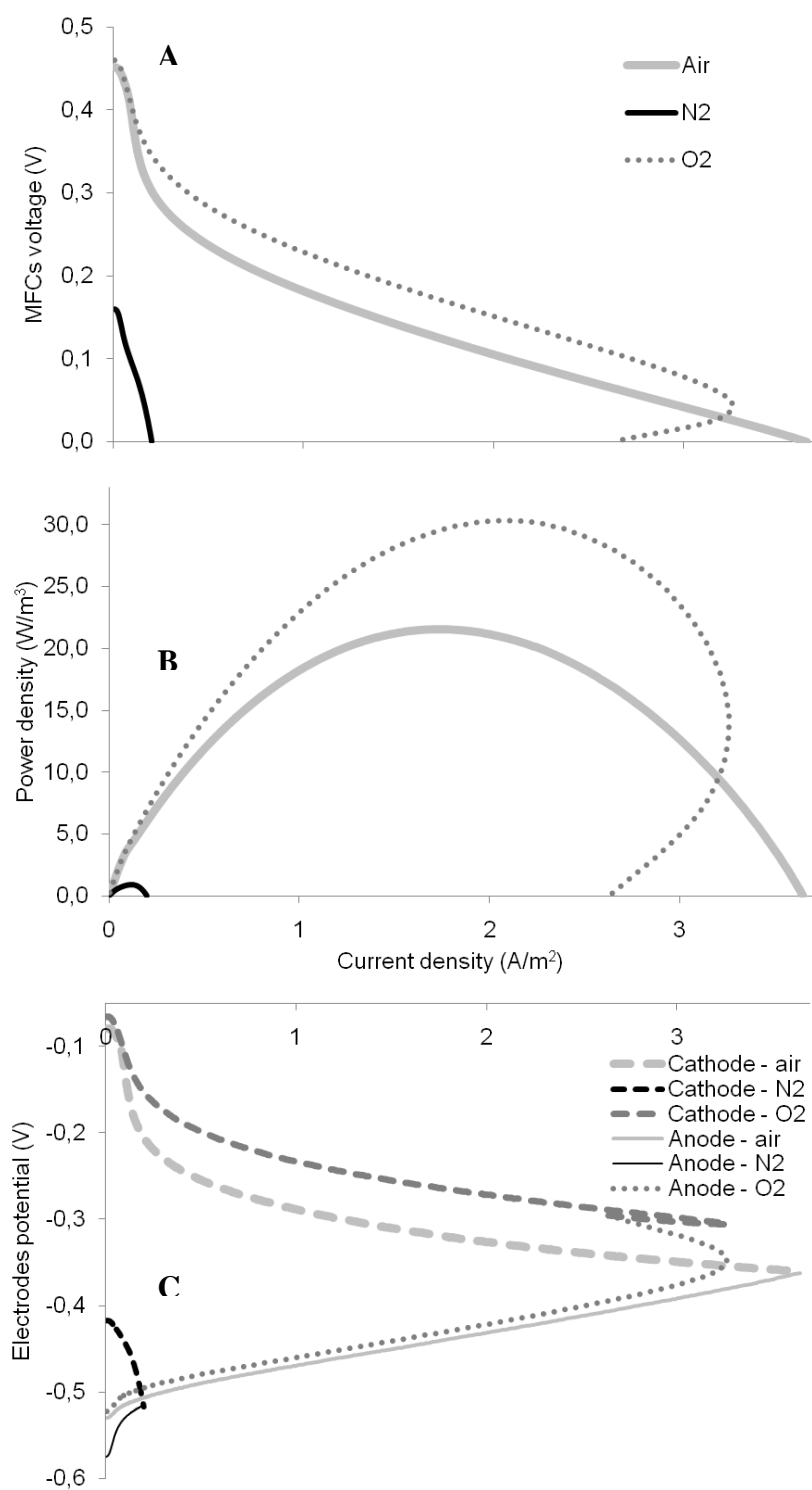


Figure 6-6: Polarization (A) and power (B) curves and electrodes potential (C) during polarization of Fe_2O_3 cathode in air, N_2 and O_2 atmospheres

Table 6.3: COD removal and coulombic efficiency (CE) of cathodic materials under atmospheres of air and O₂

Materials	Atmosphere *	COD removal (%)	CE (%)
C	Air	64,5 ± 0,2	12,9 ± 0,4
	O ₂	69,9 ± 5,5	15,0 ± 1,7
Fe ₂ O ₃	Air	71,1 ± 9,1	24,2 ± 1,9
	O ₂	73,9 ± 0,7	31,4 ± 3,1
Mn ₂ O ₃	Air	86,5 ± 0,5	35,2 ± 3,7
	O ₂	99,4 **	42,6 **
Pt	Air	85,3 ± 0,5	47,2 ± 2,7
	O ₂	83,2 ± 8,1	45,3 ± 3,7

* Parameters determined after 1 and 10 days for air and 13 days for O₂ atmospheres

** Average not available

Iron and manganese ion concentrations in solution with C, Fe₂O₃ and Mn₂O₃ cathodes were evaluated in MFC and half-cell tests (Table 6.4). The ion concentration in the electrolytes with carbon cathodes were used as controls. Iron in all solutions stayed at a level close to the concentration measured in MFCs with C cathodes. However, manganese levels increased significantly with Mn₂O₃ cathodes both in half-cells and MFCs. Moreover, a higher manganese ion concentration was observed after one day of Mn₂O₃ cathode operation than after 8 days of test.

After 2 to 4 weeks, the cathodes were removed and an environmental scanning electron microscopy study was undertaken using cathode samples (images not shown). From these observations the biofilm thickness was estimated to be approximately 10 to 20 µm. All materials showed identical surface aspects, grown biofilms and microorganisms of similar shape.

Table 6.4: Iron and manganese concentrations in MFC and half-cell solutions for C, Fe₂O₃ and Mn₂O₃ cathodes

MFC	Mn (ppm)	Fe (ppm)
C	0,124	0,222
Fe ₂ O ₃ (1 day)	0,115	0,176
Fe ₂ O ₃ (9 days)	0,121	0,241
Mn ₂ O ₃ (1 day)	0,696	0,202
Mn ₂ O ₃ (8 days)	0,185	0,204
Half cell	Mn (ppm)	Fe (ppm)
C	0,187	0,305
Fe ₂ O ₃	0,179	0,282
Mn ₂ O ₃	0,361	0,379

6.5 Discussion

MFC operation with C, Fe₂O₃ and Mn₂O₃ cathode catalysts enables a comparison of their catalytic properties in a MFC as well as the suitability of these materials to stimulate biocathodic activity. Importantly, all MFC tests were started with Pt-containing cathodes. The cathodes to be tested were installed after observing a stable power output. Owing to well-colonized anodes, after the cathodes were replaced stable power outputs were observed within one hour. Because of the very short time elapsed after cathode replacement, we related this power output to the electrochemical activity of the cathode. After the installation of new Fe₂O₃, Mn₂O₃ and Pt cathodes, a decrease in MFC performance was observed over a 10-day testing period (Table 6.1). This reduction was most likely caused by loss of catalyst in electrolyte and its deactivation (poisoning) with time by the electrolyte components [3, 5, 7], parasitic reactions caused partly by the biofilm formed on cathode or incomplete oxygen reduction (generation of OH⁻ or H₂O₂) [4, 6, 31]. Also, this reduction could be attributed to decreased current generation because the anode was frequently used in the electrochemical tests as a counter electrode (current reversal) which may have slightly damage the anode-reductive biofilm [32]. Performances of carbon cathodes

were the most stable over the testing period since no catalyst can leach or be poisoned and the current generated by this material is not high enough to damage the anodic biofilm when the anode is used as a counter electrode.

The development of biocatalytic activity was anticipated at least on C cathodes [33-35], however their performance did not increase with time, which should happen with the growth of an active cathodic biofilm. Therefore, it was concluded that carbon only showed standard electrochemical behavior with a high cathodic overpotential for ORR. Other tested materials worked as electrochemical catalysts since their performance declined significantly with time. These conclusions are supported by cyclic voltammograms (Figure 6-4) showing that the ORR starts at 105, -235, -225 and -255 mV vs Ag/AgCl for Pt, Mn_2O_3 , Fe_2O_3 and C, respectively. These values correspond to the cathodic working potentials measured during MFC operation, assuming that the oxygen reduction reaction takes place at the material surface in all cases. Moreover, a change in activation losses has not been observed during the testing period on each material, indicating that it might not have been any increase in the active bacterial population at the cathode and/or no improvement of the cathodic reaction. Although biofilm formation at the cathode surface was visually observed and confirmed by scanning microscopy, a significant increase in the cathodic activity was not observed with time. This suggests that biofilm formation alone at the cathode is not a sufficient condition for observing biocathodic activity, but that the proliferation of electrochemically active population is required.

EIS measurements (Table 6.1) showed that the resistances related to the electrolyte and secondary reactions accounted for a maximum of 3 Ω , which may be slightly influenced by a minor solution composition change and a reference electrode displacement between measurements. Thus approximately 10 to 25 % of total cathodic resistance is a source of power loss related to solution resistance and other processes on cathode materials. From the shapes of the EIS spectra shown in Figure 6-3, we can assume that the Pt-cathode behavior can be mostly attributed to a limited diffusion process since its charge transfer reaction is a more flattened semi-circle than those of the other tested cathodes. This conclusion is supported by a CPE parameter fitting and by the decrease of the charge transfer resistance (R_C^{ct}) in the presence of the saturated O_2 atmosphere and the increase of the diffusion limitations that still appear on the EIS spectra.

The Mn_2O_3 cyclic voltammograms (Fig. 6-4 insert) show reduction peaks occurring at potentials between 0,25 and 0,55 V vs Ag/AgCl, which most likely corresponds to Mn^{2+} release into solution [23, 27, 36]. This reduction peak is more pronounced at the beginning of cathode operation and then it decreases considerably. These results are supported by atomic absorption analysis (Table 6.4), indicating a high manganese ion release in solution. This phenomenon was not observed for Fe_2O_3 or other materials. Since this reduction takes place at a potential much higher than the cathode working potential for Mn_2O_3 , we believe that during normal MFC operation, a significant amount of Mn^{2+} ions would not be released, a release that would stimulate the development and the activity of an ORR active cathodic biofilm. However, a cathodic reaction improvement was not observed in our MFCs with high Mn^{2+} release during voltammetry, even in a MFC that was operated for more than three months (results not shown). The cathodic activity not improving over time is consistent with a previous study, where an improvement of biocathode power generation with manganese oxide deposition onto the cathode was not observed, although an increase of active cathodic biofilm formation was noticed [37].

From half-cell tests with 1 cm^2 non-colonized and colonized cathode samples, a negative effect of the biofilm on the ORR potentials was observed in all cases. The electrodes ORR onset potential decreased in the presence of bacteria. The ORR onset potentials also decreased over time (14 days to one month) in MFCs, confirming the negative impact of biofilm on ORR. The biofilm observed on the cathodes surface was expected to be ORR active. We may assume the negative effect of the biofilm formed on the cathode's catalyst (ex.: catalyst poisoning) or by parasitic activity. We did not observe a significant electrode resistance change during the early stages of biofilm growth (14 days to one month), despite observing a decreasing ORR onset potential and catalytic activity. This observation thus differs from the results obtained by Yang et al [38], where electrode resistance was observed to be negatively affected by the cathodic biofilm.

In general, it is considered that a high OCV (open circuit voltage) is correlated to a good MFC performance. Platinum and Mn_2O_3 possess the two highest OCVs, 705 and 634 mV, respectively, as can be seen from Figure 6-5. However, the power generated by Pt cathodes is almost 3-times higher than that generated by Mn_2O_3 and 5 and 11 times higher than the power generated by Fe_2O_3 and C cathodes respectively. The OCV is only partially related to the performance of the MFC. The activity of the oxide can also be related to the availability of the released metallic ions of the oxide, which may improve the ORR. In the case of Mn_2O_3 , its high cathodic overpotential

(400 mV) is most likely the cause of its lower than expected power generation. On the other hand, iron ions are highly insoluble at a pH higher than 2,5 [6, 36] and Fe_2O_3 is a particularly stable oxide, which may explain its poor performance for ORR. It is well-known [6, 8] that carbon electrodes exhibit a very poor ORR because of its inertia for this reaction, its elevated overpotential and low activity. This explains the EIS and polarization results in this work that demonstrate a higher total cathodic resistance for C cathodes when compared to other materials.

From Figure 6-5A, we can note that the activation losses of Pt, Mn_2O_3 , Fe_2O_3 and C cathodes decrease their MFC potential of approximately 100, 300, 125 and 150 mV respectively. By taking the slope of the first linear part of the polarization curves the activation losses of different materials can be compared. Pt, Mn_2O_3 , Fe_2O_3 and C cathodes have respective slopes of 96, 271, 183 and 169 Ω . These results illustrate why Mn_2O_3 shows a high overpotential and low power output despite exhibiting a relatively high OCP. Platinum is the best catalyst among the four materials. This is due to the well known excellent electrocatalytic properties of Pt for the ORR [6].

Carbon cathodes used in this work exhibit a volumetric power generation of 8,1 W/m^3 , which is lower than the volumetric power production reached in some other studies [34, 37], where power densities of 15 and 65 W/m^3 were obtained using graphite felt biocathodes. Power densities of 24,7 and 68,4 W/m^3 were achieved with biocathodes based on graphite fiber brushes [35, 39]. Differences in power densities can be attributed to the operation conditions, MFC design and cathode surface area. A higher cathode area will increase power generation [40], while cathode active thickness in our tests did not exceed 0,1 mm with a surface area of 50 cm^2 . However, even lower power outputs were observed in some other studies with a large surface area, between 2,6 and 4,4 W m^{-3} [8, 33, 41].

Our experimental results in this work also show that MFCs based on Mn_2O_3 exhibit a power density of 31,7 W m^{-3} (i_{max} of 5,5 A m^{-2}) (figure 6-5). This is the highest performance of a MFC based on manganese cathodes until now. Few studies have previously been performed with MnO_2 cathodes [9, 10] that have indicated power densities of 3,8 W/m^3 (i_{max} of 0,1 A/m^2) [10] and 1,3 W/m^3 (i_{max} of 1,1 A/m^2) [9]. In our study, an open circuit potential (OCP) of 635 mV was obtained whereas OCPs of 565 [10] and 715 mV [9] were obtained with MnO_2 cathodes. A systematic comparison of these results is difficult because of the differences in the oxide

composition and loading ($0,2 \text{ mg cm}^{-2}$ in our study vs $0,8 \text{ mg cm}^{-2}$ in [9] and 8 mg cm^{-2} in [10]). Even with this significant difference in oxide loading, our catalyst, which has the lowest oxide loading, exhibits the highest power density. These differences in performance might also be attributed to the difference in the electrolyte composition, the contamination of the electrode surface by the biofilm composition and the MFC design. In particular, such improvements in MFC design, as the absence of a PEM, the use of air-breezing cathodes, minimal distance between the electrodes might decrease MFC internal resistance and lead to a higher power density.

The results we obtained for the first time with Fe_2O_3 based cathode indicated that their performance in an MFC is less than those of the Mn_2O_3 based cathode, but more active than the carbon cathode (Table 6.1, Figure 6-5).

Replacement of air with pure oxygen in the cathode compartment might have several effects on MFC performance as high oxygen levels could affect both cathode and anode performance. Because of O_2 diffusion to the anode, the use of pure O_2 could inhibit anaerobic electricigenic microorganisms and provide an alternative electron acceptor thus reducing the current and decreasing MFC efficiency. On the contrary, the presence of the oxygen at the cathode should improve the ORR. In particular, it should increase the cathode OCP, and contribute to decreasing activation loss and/or improve ORR at reactive sites because of increased oxygen availability [6, 35]. This explains the results obtained during the oxygen tests with C, Fe_2O_3 and Mn_2O_3 materials using EIS and polarization tests (Table 6.1) and COD removal and CE (Table 6.3).

Although Pt cathodes have demonstrated the highest catalytic activity for ORR, the COD removal and the CE are similar if oxygen or air is used as the oxidant (Table 6.3). This constant performance can be explained by the availability of the electrons coming to the cathode from the anode. In the case of a classical hydrogen/oxygen PEM fuel cell, the Pt oxygen cathode is relatively efficient for the ORR because the hydrogen oxidation is very fast at the anode, which provides sufficient electrons to the cathode for the ORR. The rate of the ORR is 3 to 4 orders of magnitude smaller than those of the anode reaction. Accordingly, the cathodic reaction limits the overall performance of the H_2/O_2 PEM cell. On the contrary, in the MFC the cathode performance could be higher than the anode performance. This effect is illustrated in figure 6-6C where the anode potential decreases abruptly under cathodic O_2 atmosphere at a higher current

density (maximal produced current), a behavior that is not observed when the cathode is exposed to air. This statement is supported by evaluated anodic overpotentials, where an anodic overpotential of 150 mV is observed for a Pt-based MFC working on oxygen in the cathodic compartment, while anodic overpotentials are between 80 and 100 mV for the three other materials. This is as well supported by the EIS and polarization measurements (Table 6.1), which indicate that a low cathode resistance and high internal resistance are obtained. Thus both cathode and anode activity could be rate limiting in a MFC, but limited anode activity is assumed to be the reason for Pt cathode limitation under O_2 .

The results presented above show that the Mn_2O_3 based cathodes might be of interest for developing MFCs with an inexpensive non-noble cathode catalyst. It should be emphasized that in this study Mn_2O_3 cathodes were not optimized and their performance might be further improved. In particular, the activation losses could be decreased by increasing the catalyst loading to values similar to those used in previous studies performed with Mn-oxide based cathodes for MFC applications [9, 26]. Another possibility is the modification of the crystalline structure that may enhance its catalytic activity for the ORR [28].

6.6 Conclusion

Four different cathode materials, C, Fe_2O_3 and Mn_2O_3 and Pt have been tested in this work in order to evaluate their behavior and suitability as ORR catalysts in MFCs. Based on the results obtained in this work, the ORR activity in a classical electrochemical cell with the C, Fe_2O_3 and Mn_2O_3 based cathodes is higher than the ORR activity with the same materials in a MFC. Despite the observation of biofilm formation on the cathode surface, biocathodic activity has not been proven, at least for the duration of the tests in this study (1-2 months). Therefore, it was concluded that biocathodes might exhibit significantly lower ORR activity in MFCs and high-efficiency MFCs might rely on metal catalysts for ORR. Nevertheless, the good performance of the manganese oxides cathode obtained in this work and elsewhere [9, 10, 42] for the ORR in MFCs is an indication that inexpensive non-noble cathode catalysts could be successfully developed.

6.7 Acknowledgements

Funding for this study was provided by NSERC and NRC Canada (NRC publication no 00000). The authors would like to thank Manon Leduc for her technical analyses as well as Huimin Tian for her experimental assistance.

6.8 References

- [1] Logan, B.E., Hamelers, B., Rozendal, R., Schroder, U., Keller, J., Freguia, S., Aelterman, P., Verstraete, W. and Rabaey, K., Microbial Fuel Cells: Methodology and Technology. Environ. Sci. Technol., 2006. 40(17): p. 5181-5192.
- [2] Lovley, D.R., The microbe electric: conversion of organic matter to electricity. Current Opinion in Biotechnology, 2008. 19(6): p. 564-571.
- [3] Clauwaert, P., Aelterman, P., Pham, T., De Schamphelaire, L., Carballa, M., Rabaey, K. and Verstraete, W., Minimizing losses in bio-electrochemical systems: the road to applications. Applied Microbiology and Biotechnology, 2008. 79(6): p. 901-913.
- [4] Harnisch, F., Wirth, S. and Schröder, U., Effects of substrate and metabolite crossover on the cathodic oxygen reduction reaction in microbial fuel cells: Platinum vs. iron(II) phthalocyanine based electrodes. Electrochemistry Communications, 2009. 11(11): p. 2253-2256.
- [5] Niessen, J., Schröder, U., Rosenbaum, M. and Scholz, F., Fluorinated polyanilines as superior materials for electrocatalytic anodes in bacterial fuel cells. Electrochemistry communications 2004. 6: p. 5.
- [6] Rismani-Yazdi, H., Carver, S.M., Christy, A.D. and Tuovinen, O.H., Cathodic limitations in microbial fuel cells: An overview. Journal of Power Sources, 2008. 180(2): p. 683-694.
- [7] Zhao, F., Harnisch, F., Schroder, U., Scholz, F., Bogdanoff, P. and Herrmann, I., Challenges and Constraints of Using Oxygen Cathodes in Microbial Fuel Cells. Environmental Science & Technology, 2006. 40(17): p. 5193-5199.
- [8] Tran, H.-T., Ryu, J.-H., Jia, Y.-H., Oh, S.-J., Choi, J.-Y., Park, D.-H. and Ahn, D.-H., Continuous bioelectricity production and sustainable wastewater treatment in a microbial fuel cell constructed with non-catalyzed granular graphite electrodes and permeable membrane. Water Science & Technology, 2010. 61(7): p. 1819-1827.

- [9] Roche, I., Katuri, K. and Scott, K., A microbial fuel cell using manganese oxide oxygen reduction catalysts. *Journal of Applied Electrochemistry*, 2010. 40(1): p. 13-21.
- [10] Zhang, L., Liu, C., Zhuang, L., Li, W., Zhou, S. and Zhang, J., Manganese dioxide as an alternative cathodic catalyst to platinum in microbial fuel cells. *Biosensors and Bioelectronics*, 2009. 24(9): p. 2825-2829.
- [11] Yuan, Y., Zhou, S. and Zhuang, L., Polypyrrole/carbon black composite as a novel oxygen reduction catalyst for microbial fuel cells. *Journal of Power Sources*, 2010. 195(11): p. 3490-3493.
- [12] Zhao, F., Harnisch, F., Schröder, U., Scholz, F., Bogdanoff, P. and Herrmann, I., Application of pyrolysed iron(II) phthalocyanine and CoTMPP based oxygen reduction catalysts as cathode materials in microbial fuel cells. *Electrochemistry Communications*, 2005. 7(12): p. 1405-1410.
- [13] HaoYu, E., Cheng, S., Scott, K. and Logan, B., Microbial fuel cell performance with non-Pt cathode catalysts. *Journal of Power Sources*, 2007. 171(2): p. 275-281.
- [14] Park, D.H. and Zeikus, J.G., Improved fuel cell and electrode designs for producing electricity from microbial degradation. *Biotechnology and Bioengineering*, 2003. 81(3): p. 348-355.
- [15] Duteanu, N., Erable, B., Senthil Kumar, S.M., Ghangrekar, M.M. and Scott, K., Effect of chemically modified Vulcan XC-72R on the performance of air-breathing cathode in a single-chamber microbial fuel cell. *Bioresource Technology*, 2010. 101(14): p. 5250-5255.
- [16] Erable, B., Duteanu, N., Kumar, S.M.S., Feng, Y., Ghangrekar, M.M. and Scott, K., Nitric acid activation of graphite granules to increase the performance of the non-catalyzed oxygen reduction reaction (ORR) for MFC applications. *Electrochemistry Communications*, 2009. 11(7): p. 1547-1549.
- [17] Zhang, F., Cheng, S., Pant, D., Bogaert, G.V. and Logan, B.E., Power generation using an activated carbon and metal mesh cathode in a microbial fuel cell. *Electrochemistry Communications*, 2009. 11(11): p. 2177-2179.

- [18] Lefebvre, O., Al-Mamun, A., Ooi, W.K., Tang, Z., Chua, D.H.C. and Ng, H.Y., An insight into cathode options for microbial fuel cells. *Water Science & Technology*, 2008. 57(12): p. 2031-2037.
- [19] Clauwaert, P., Rabaey, K., Aelterman, P., De Schamphelaire, L., Pham, T.H., Boeckx, P., Boon, N. and Verstraete, W., Biological Denitrification in Microbial Fuel Cells. *Environmental Science & Technology*, 2007. 41(9): p. 3354-3360.
- [20] Ehrlich, H.L., How microbes influence mineral growth and dissolution. *Chemical Geology*, 1996. 132(1-4): p. 5-9.
- [21] Tandukar, M., Huber, S.J., Onodera, T. and Pavlostathis, S.G., Biological Chromium(VI) Reduction in the Cathode of a Microbial Fuel Cell. *Environmental Science & Technology*, 2009. 43(21): p. 8159-8165.
- [22] Cournet, A., Délia, M.-L., Bergel, A., Roques, C. and Bergé, M., Electrochemical reduction of oxygen catalyzed by a wide range of bacteria including Gram-positive. *Electrochemistry Communications*, 2010. 12(4): p. 505-508.
- [23] He, Z. and Angenent, L., Application of Bacterial Biocathodes in Microbial Fuel Cells. *Electroanalysis*, 2006. 18(19-20): p. 2009-2015.
- [24] Rosenbaum, Aulenta, F., Villano, M. and Angenent, L.T., Cathodes as electron donors for microbial metabolism: Which extracellular electron transfer mechanisms are involved? *Bioresource Technology*, 2010. 102(1): p. 324-333.
- [25] Erable, B., Vandecastelaere, I., Faimali, M., Delia, M.-L., Etcheverry, L., Vandamme, P. and Bergel, A., Marine aerobic biofilm as biocathode catalyst. *Bioelectrochemistry*, 2010. 78(1): p. 51-56.
- [26] Calegaro, M.L., Lima, F.H.B. and Ticianelli, E.A., Oxygen reduction reaction on nanosized manganese oxide particles dispersed on carbon in alkaline solutions. *Journal of Power Sources*, 2006. 158(1): p. 735-739.
- [27] Huheey, J.E., Keiter, E.A. and Keiter, R.L., *Inorganic Chemistry: Principles of structure and reactivity*. 4th ed. 1993, New York: Harper & Row. 964.

- [28] Mao, L., Zhang, D., Sotomura, T., Nakatsu, K., Koshiba, N. and Ohsaka, T., Mechanistic study of the reduction of oxygen in air electrode with manganese oxides as electrocatalysts. *Electrochimica acta*, 2003. 48(8): p. 1015-1021.
- [29] Martin, E., Savadogo, O., Guiot, S.R. and Tartakovsky, B., The influence of operational conditions on the performance of a microbial fuel cell seeded with mesophilic anaerobic sludge. *Biochemical Engineering Journal*, 2010. 51(3): p. 132-139.
- [30] Barsoukov, E. and Macdonald, J.R., *Impedance Spectroscopy - Theory, Experiment, and Applications*. 2005, Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. 595.
- [31] Bergel, A., Féron, D. and Mollica, A., Catalysis of oxygen reduction in PEM fuel cell by seawater biofilm. *Electrochemistry Communications*, 2005. 7(9): p. 900-904.
- [32] Oh, S.E., Kim, J.R., Joo, J.H. and Logan, B.E., Effects of applied voltages and dissolved oxygen on sustained power generation by microbial fuel cells. *Water Sci. Technol.*, 2009. 60: p. 7.
- [33] Chen, G.-W., Cha, J.-H., Choi, S.-J., Lee, T.-H. and Kim, C.-W., Characterization of an open biocathode microbial fuel cell for electricity generation and effluent polish. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 2010. 27(3): p. 828-835.
- [34] Rabaey, K., Read, S.T., Clauwaert, P., Freguia, S., Bond, P.L., Blackall, L.L. and Keller, J., Cathodic oxygen reduction catalyzed by bacteria in microbial fuel cells. *ISME J*, 2008. 2(5): p. 519-527.
- [35] Zhang, J.-N., Zhao, Q.-L., Aelterman, P., You, S.-J. and Jiang, J.-Q., Electricity generation in a microbial fuel cell with a microbially catalyzed cathode. *Biotechnology Letters*, 2008. 30(10): p. 1771-1776.
- [36] Logan, B.E., *Microbial fuel cells*. 2008, Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. 200.
- [37] Clauwaert, P., van der Ha, D., Boon, N., Verbeken, K., Verhaege, M., Rabaey, K. and Verstraete, W., Open Air Biocathode Enables Effective Electricity Generation with Microbial Fuel Cells. *Environmental Science & Technology*, 2007. 41(21): p. 7564-7569.

- [38] Yang, S., Jia, B. and Liu, H., Effects of the Pt loading side and cathode-biofilm on the performance of a membrane-less and single-chamber microbial fuel cell. *Bioresource Technology*, 2009. 100(3): p. 1197-1202.
- [39] You, S.J., Ren, N.Q., Zhao, Q.L., Wang, J.Y. and Yang, F.L., Power Generation and Electrochemical Analysis of Biocathode Microbial Fuel Cell Using Graphite Fibre Brush as Cathode Material. *Fuel Cells*, 2009. 9(5): p. 588-596.
- [40] Oh, S.E., Min, B. and Logan, B.E., Cathode Performance as a Factor in Electricity Generation in Microbial Fuel Cells. *Environmental Science & Technology*, 2004. 38(18): p. 4900-4904.
- [41] Liang, P., Fan, M., Cao, X. and Huang, X., Evaluation of applied cathode potential to enhance biocathode in microbial fuel cells. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 2009. 84(5): p. 794-799.
- [42] Roche, I. and Scott, K., Carbon-supported manganese oxide nanoparticles as electrocatalysts for oxygen reduction reaction (orr) in neutral solution. *Journal of Applied Electrochemistry*, 2009. 39(2): p. 197-204.

CHAPITRE 7 DISCUSSION GÉNÉRALE

Ce chapitre expose les différents résultats présentés dans les quatre articles de cette thèse afin de démontrer leur importance dans l'amélioration de la performance des piles à combustible microbiennes utilisées dans ce projet, plusieurs des résultats acquis pouvant être aussi appliqués à toutes piles microbiennes. Certains de ces résultats sont inédits alors que d'autres viennent plutôt appuyés des observations faites auparavant par différents groupes de recherche. Ce chapitre sera divisé en trois sections, la première abordant les diverses conditions d'opération évaluées, soit la charge organique, le pH, la température, la charge externe, la conductivité, de même que l'influence de la configuration de la pile sur son efficacité et sa puissance générée. Les réactions siégeant aux électrodes ainsi que l'effet des différents matériaux testés tant à l'anode qu'à la cathode seront ensuite traités. Finalement, une synthèse des résultats sera faite, comparant les performances des piles utilisées dans cette étude avec celles d'autres groupes de recherche tant au niveau de la performance générale de la pile que des différents matériaux de cathode testés.

7.1 Conditions d'opération et configuration des piles

Divers paramètres d'opération ont été variés dans le cadre de cette thèse, soit la charge organique, le pH, la température, la charge externe et la conductivité. Dans le premier cas, la charge organique de glucose et d'acétate est variée afin d'évaluer son influence sur les diverses espèces microbiennes présentes au sein du réacteur et aussi d'identifier les limitations qu'une concentration trop faible ou trop élevée de matières organiques peut causer. Le tableau 7.1 présente la puissance, le taux de méthane produit et l'efficacité obtenus dans de tels cas, où L_A représente le volume du compartiment anodique de la pile, en litre. Il est à noter que les deux substrats ont été testés dans des piles à combustible microbiennes dont la configuration était différente. Quoique la charge organique cause une grande génération de méthane, celle-ci augmentant avec l'augmentation de la disponibilité du substrat, il ressort de ces résultats qu'une charge optimale de 2 à 4 g L_A^{-1} jour⁻¹ (correspondant à une concentration de substrat dans le liquide anodique de 200-250 mg L^{-1}) entraîne une puissance supérieure, caractéristique clé des piles microbiennes. L'efficacité coulombique a tendance à diminuer avec une charge organique croissante, donc moins de substrat est consacré à la production d'électricité. Toutefois, le taux d'enlèvement de la charge organique demeure supérieur à 80% à la charge organique optimale,

démontrant une bonne efficacité de traitement des eaux usées couplée à la puissance maximale générée.

Tableau 7.1 : Puissance, taux de méthane produit et efficacité obtenus en variant la charge organique dans deux types de piles à combustible microbiennes

Substrat	Charge organique (g L _A ⁻¹ jr ⁻¹)	P _{max} (W m ⁻³)	CH ₄ produit (L L _A ⁻¹ jr ⁻¹)	Efficacité coulombique (%)	Enlèvement de la charge organique (%)
Glucose	0,19	4,0	0,01	42,1	92,7
	0,47	4,8	0,02	23,1	89,7
	0,93	9,8	0,11	15,3	87,1
	1,86	10,8	0,26	7,0	87,9
	3,72	10,6	0,49	4,1	82,3
	7,44	7,8	0,66	2,0	74,3
Acétate	2	37,8	nd	60,5	98,1
	4	92,4		32,9	90,9
	8	80,8		27,5	52,9

L'étude de la relation entre la concentration de substrat et la puissance d'une pile à combustible microbienne a été faite par le passé, la plupart du temps au sein de piles opérées en cuvette, ou encore à des concentrations modérées (Gil *et al.*, 2003; Jadhav & Ghangrekar, 2009; Moon *et al.*, 2005) mais sans étudier la cinétique de consommation de substrat par les espèces électrigènes et méthanogènes. Dans notre étude, il est montré clairement que le ratio électricité/méthane peut être optimisé en réduisant le taux de charge organique dans la pile. Les microorganismes méthanogènes possèdent une affinité pour le substrat plus faible que les espèces électrigènes et sont très peu actifs à faible concentration de substrat. L'affinité supérieure des espèces électrigènes à faible charge organique leur attribue la consommation considérable du substrat, ceci expliquant une efficacité coulombique et un taux d'enlèvement de la charge organique élevés. Toutefois, une concentration faible d'acétate amènera une limitation de substrat à l'anode, tel qu'il a été évoqué dans le chapitre 5 «*Electrochemical study of the effect of the anodic biofilm limitations on the performances of microbial fuel cells*» par les tests d'impédance

électrochimique. Cette observation explique la puissance nettement inférieure malgré une plus grande disponibilité du substrat pour les espèces électricigènes.

D'un autre côté, une concentration de substrat élevée cause l'inhibition de l'activité des espèces électricigènes. Cette affirmation a été soulevée dans le premier article au chapitre 3 « *The influence of operational conditions on the performance of a microbial fuel cell seeded with mesophilic anaerobic sludge* », mais le chapitre 5 lève le voile sur l'influence des protons sur cette limitation en évaluant la limitation par la diffusion par voltammétrie cyclique en fonction de la charge organique. En effet, lors de la consommation des substrats, les microorganismes électricigènes génèrent des protons qui migrent par la suite pour être utilisés dans la réduction de l'oxygène à la cathode. Toutefois, la diffusion des protons hors du biofilm est un processus dépendant de la conductivité de la solution, et l'accumulation des protons aux environs des microorganismes électricigènes peut diminuer le pH environnant de même que les conditions d'oxydoréduction locales, freinant ainsi le métabolisme de consommation de substrats des espèces électricigènes causant la baisse de puissance des piles. Cette observation d'acidification locale et de baisse d'activité des organismes électricigènes par l'accumulation de protons a aussi été constatée ou supposée par des études différentes, soit en variant la concentration de phosphates dans l'électrolyte (Torres *et al.*, 2008), soit en étudiant les différentes étapes du transfert de charge à l'anode de *Geobacter sp.* mutantes par voltammétrie cyclique (Richter *et al.*, 2009) ou encore en développant un système sensible de mesure du gradient de pH au sein du biofilm anodique (Franks *et al.*, 2009).

Au tableau 7.1, on peut voir une amélioration significative de la puissance générée par une pile microbienne dont la configuration a été modifiée (cas de l'acétate). La diminution substantielle de la distance séparant les électrodes décroît la résistance interne en minimisant la distance à être parcourue par les protons dans l'électrolyte avant d'atteindre la cathode. Cette observation avait déjà fait l'objet d'autres recherches (Cheng *et al.*, 2006b; Fan *et al.*, 2007). L'augmentation de la puissance de la pile est aussi reliée à la baisse de moitié du volume de celle-ci, ce changement étant non négligeable lors du calcul de la puissance volumique. De plus, la nature du substrat est différente, l'utilisation d'acétate ne génère pas de sous-produits de fermentation comme dans le cas du glucose, ceci augmentant aussi l'efficacité coulombique et d'enlèvement de la charge organique de la pile. Toutefois, il est difficile de quantifier individuellement la contribution de

chacun des changements dans l'augmentation de la puissance et l'efficacité de la pile puisqu'ils ont été faits simultanément.

La modification du pH de l'électrolyte permet d'observer l'influence à la fois sur les espèces électricigènes et méthanogènes. La puissance, le taux de génération de méthane ainsi que l'efficacité de la pile sont présentés dans le tableau 7.2.

Tableau 7.2 : Puissance, taux de méthane produit et efficacité obtenus en variant le pH

pH	P_{\max} (W m ⁻³)	CH ₄ produit (L L _A ⁻¹ jr ⁻¹)	Efficacité coulombique (%)	Enlèvement de la charge organique (%)
7	10,8	0,26	7,0	87,9
6,5	15,6	0,15	8,1	91,2
6,25	15,8	0,10	8,6	85,3
6	11,4	0,12	9,1	77,2
5,5	3,4	0,002	5,2	67,6

On note qu'en augmentant légèrement l'acidité de la solution d'une valeur de 7 à une valeur de 6,25-6,5, la puissance volumique augmente alors que la quantité de méthane générée diminue. On peut donc supposer que le substrat non consommé par les espèces méthanogènes a été utilisé par les espèces électricigènes, cette affirmation étant appuyée par l'augmentation de l'efficacité coulombique. L'enlèvement de la charge organique demeure entre 85 et 92%, donc le traitement est efficace. L'augmentation de puissance peut aussi être en partie liée à la quantité de protons présents en solution, celle-ci augmentant alors que le pH est diminué. Cet effet a pour conséquence de diminuer la résistance interne de la pile, principalement au niveau de la résistance de la cathode. Les études ayant évalué l'effet du pH sur la performance de piles à combustible microbiennes ont la plupart du temps été effectuées dans une configuration à deux chambres séparées par une membrane, créant ainsi un important gradient de pH au sein de la pile. Dans ces conditions, un pH neutre dans le compartiment anodique est considéré optimal. Les résultats de cette partie de la présente étude dénote une fois de plus l'importance de contrôler les espèces microbiennes ne contribuant pas à la génération de l'électricité afin d'améliorer les performances de nos piles microbiennes inoculées par une source mixte.

La température est aussi un paramètre d'opération influençant l'activité des espèces électricigènes et méthanogènes. Contrairement à la variation de la concentration de substrat où les microorganismes électricigènes possédaient une plus grande affinité que leurs compétiteurs, la température a plutôt tendance à avoir un effet plus important sur les espèces méthanogènes à l'anode. Cet effet est exposé dans le tableau 7.3, où la valeur soulignée illustre le thermocouple ayant servi au contrôle de la température. Ainsi, lorsque l'anode est chauffée à 38°C comparativement à 27°C, la puissance augmente de 4% alors que la génération de méthane augmente de 200%. L'efficacité coulombique demeure relativement stable, sa légère hausse pouvant être attribuée à l'augmentation minime de la puissance. Toutefois, l'efficacité d'enlèvement de la charge organique est elle aussi à peine améliorée après ce changement de température, ce qui est surprenant vu l'augmentation simultanée de la génération de méthane et d'électricité. Il peut être supposé que l'augmentation de la puissance est plutôt reliée à l'augmentation du transfert des espèces électroactives dans la pile ou de leur réactivité plutôt que de l'activité même des microorganismes électricigènes. Le substrat étant en partie détourné à la consommation des espèces méthanogènes, on retrouve un enlèvement semblable des matières organiques.

Tableau 7.3 : Puissance, taux de méthane produit et efficacité obtenus en variant la température des électrodes

Position de la plaque chauffante	T° anode (°C)	T° liquide (°C)	T° cathode (°C)	P _{max} (W m ⁻³)	CH ₄ produit (L L _A ⁻¹ jr ⁻¹)	Efficacité coulombique (%)	Enlèvement de la charge organique (%)
Côté de l'anode	27	<u>25</u>	24	16,2	0,16	4,7	76,6
	<u>38</u>	32	28	18,3	0,5	4,8	77,7
Côté de la cathode	30	36	<u>62</u>	19,2	0,19	5,2	74,0

Le troisième test effectué consiste à chauffer la cathode à la température maximale obtenue par la plaque chauffante alors que l'anode demeure à une température modérée (tableau 7.3). Ceci a pour effet d'augmenter une fois de plus la puissance et la génération de méthane, mais de 19% dans les deux cas comparativement aux valeurs obtenues lors du maintien de la température (première ligne dans le tableau). Il est clair que les microorganismes méthanogènes sont

grandement influencés par une hausse de température, aussi minime soit-elle. D'autre part, malgré l'augmentation de la puissance et la quantité de CH_4 produit, l'enlèvement de la charge organique est cette fois-ci diminué. Il apparaît donc, tel que supposé précédemment, que l'amélioration de la génération d'électricité est plutôt améliorée par le transport des espèces électroactives de même que l'augmentation importante de l'activité catalytique de la cathode. Il pourrait également être présumé que les microorganismes électricigènes peuplant l'anode réagissent plutôt négativement à une augmentation de température. Dans tous les cas, la comparaison de la génération de méthane et d'électricité sous diverses variations de température aux deux électrodes, qui n'a pas été observée dans d'autres études, démontre encore la possibilité d'optimiser la performance des piles à combustible microbiennes en contrôlant la température durant leur opération.

La conductivité permet le transport efficace des espèces électroactives au sein de la pile à combustible microbienne. En diminuant grandement la teneur de chlorures et phosphates en solution, la diffusion du substrat et des protons au sein du biofilm et de l'électrolyte est restreinte. Ainsi, au chapitre 5 on a constaté par impédance électrochimique la limitation de l'atteinte du substrat à la surface de l'anode causée par la diffusion. Aussi, tel que mentionné précédemment, la baisse significative de conductivité peut influencer la diffusion des protons hors du biofilm, augmentant la résistance du transport de ceux-ci vers la cathode. L'augmentation des pertes associées au transport du substrat et des protons augmente la résistance interne de la pile, causant une diminution de la puissance pouvant être générée par la pile (voir le tableau 7.4). De plus, le manque de substrat cause la diminution de l'activité des espèces électricigènes, celle-ci étant reflétée en partie par la baisse de puissance, mais surtout par l'efficacité coulombique qui est très faible. Toutefois, l'enlèvement de la charge organique a été maximal sous ces conditions, laissant supposer que les espèces méthanogènes de même que certaines espèces microbiennes plutôt latentes tirent profit de la baisse de concentration de chlorures et de phosphates et ont augmenté leur croissance/activité. De façon générale, une conductivité relativement élevée telle que celle régnant dans nos piles microbiennes doit être maintenue afin de minimiser les limitations causées par le transport du substrat et des protons en solution, tel que suggéré par Torres *et al.* (2008).

Tableau 7.4 : Puissance et efficacité obtenues en variant la conductivité de l'électrolyte

Condition	Conductivité (mS cm ⁻¹)	P _{max} (W m ⁻³)	Efficacité coulombique (%)	Enlèvement de la charge organique (%)
Conductivité standard	20,4	77,7	25,8	77,3
Faible conductivité	4,3	23,0	2,6	99,7

Finalement, le dernier paramètre d'opération à être modifié est la charge externe (ou résistance externe, R_{ext}). L'effet de la charge externe est testé sous deux conditions, soit pendant la formation du biofilm et pendant l'opération routinière d'une pile. Dans le chapitre 4 «*Electrochemical characterization of anodic biofilm growth in a microbial fuel cell* », lors du développement du biofilm, on a pu observer que l'ajustement rapide de la résistance externe à une valeur approchant la résistance interne de la pile permettait un développement plus rapide du biofilm en favorisant le transfert de charges des microorganismes électricigènes à l'anode. À court terme, un tel biofilm développe une plus grande puissance générée que lorsque l'ajustement de R_{ext} est fait plus lentement. Néanmoins, à long terme les biofilms présentent tous deux la même puissance, les microorganismes électricigènes parvenant à faire leur place au sein du biofilm anodique. L'ajustement rapide de la charge externe demeure toutefois une meilleure alternative puisque la pile effectue plus rapidement un travail efficace au niveau du traitement des eaux et de la génération d'électricité.

Dans la deuxième série de tests, les piles sont opérées à deux résistances externes supérieures à leur résistance interne, soit 30 et 100 Ω . Tout comme il a été mentionné ci-dessus, une charge externe inférieure occasionne un meilleur captage des électrons par l'anode, augmentant ainsi l'activité des espèces électricigènes. En effet, tel que les tests d'impédance électrochimique l'ont montré dans le chapitre 5, le potentiel anodique plus élevé à une résistance externe basse conduit à la diminution de la résistance au transfert de charge (R^{ct}) à l'anode, de même qu'à l'augmentation de la capacitance (i.e. activité microbienne augmentée). Ainsi, tel qu'on peut le noter par les valeurs dans le tableau 7.5, une pile microbienne fonctionnant sous une résistance externe plus faible permet une meilleure consommation du substrat couplée à une puissance

générée et une efficacité coulombique supérieures. Ces observations ont aussi été démontrées par Aelterman *et al.* (2008b) et Ramasamy *et al.* (2008a). Donc, que ce soit pendant le développement du biofilm ou pendant l'opération quotidienne d'une pile à combustible microbienne, une charge externe minimale, légèrement supérieure à la résistance interne de la pile afin de ne pas provoquer de limitations par le transfert de masse, est la meilleure option pour l'optimisation de son fonctionnement.

Tableau 7.5 : Puissance et efficacité obtenues en opérant la pile à différentes charges externes

R_{ext} (Ω)	P_{max} (W m^{-3})	Efficacité coulombique (%)	Enlèvement de la charge organique (%)
30	108,1	46,6	71,7
100	95,3	22,5	59,8

Pour conclure, il sera simplement rappelé que, tel qu'il a été démontré dans cette section, une meilleure configuration de même que le contrôle des conditions d'opération (charge organique, pH, température, conductivité, résistance externe) permettent d'augmenter le ratio électricité/méthane en évitant la diversion du substrat au profit des espèces méthanogènes, et d'accroître la puissance générée ainsi que l'efficacité coulombique et d'enlèvement de la charge organique.

7.2 Anodes et cathodes

Malgré que les matériaux d'électrodes fassent partie de la configuration des piles à combustible microbiennes, une section de cette discussion générale leur est entièrement consacrée, l'importance de ces éléments dans cette thèse le justifiant.

D'abord, les matériaux d'anode représentent une part importante de l'efficacité des piles microbiennes puisque les microorganismes électrigènes s'y attachent afin d'utiliser l'anode comme accepteur final d'électrons. Ainsi, en comparant deux anodes de carbone sous forme de papier et de feutre, il est facile de supposer qu'une anode ayant une plus grande surface spécifique permettant l'adhésion d'une plus grande quantité de microorganismes générera une puissance plus grande, ce qui ressort effectivement de nos résultats. Le feutre possédant une épaisseur d'environ 5 mm alors que l'épaisseur du papier est d'environ 0,5 mm, il est normal

d'observer une puissance de 5 à 6 fois supérieure avec le feutre que celle générée avec le papier de carbone (tableau 7.6). Malgré que l'enlèvement de la charge organique suive la tendance constatée par l'analyse de la puissance produite, l'efficacité coulombique ne va pas de pair avec cette observation. Il est important de mentionner, principalement dans ce cas particulier, que l'efficacité coulombique calculée est « apparente », c'est-à-dire qu'on considère toute la charge organique consommée comme l'ayant été par les microorganismes électricigènes. Néanmoins, puisque l'anode de papier prend 5-6 fois moins d'espace dans le compartiment anodique, il est plutôt probable que la majeure partie de la consommation du substrat ait été effectuée par d'autres espèces (ex. : méthanogènes). La preuve est toutefois faite qu'une plus grande surface réelle d'anode permet de meilleures puissances et efficacités.

Tableau 7.6 : Puissance et efficacité obtenues avec des anodes de feutre et de papier de carbone

Anode de carbone	P_{\max} (W m ⁻³)	Efficacité coulombique (%)	Enlèvement de la charge organique (%)
Papier	16,7	51,3	13,8
Feutre	92,4	32,9	90,9

Le mécanisme de transfert de charges ayant lieu à l'anode entre les microorganismes électricigènes et l'électrode est fort probablement le transfert direct, en partie par les microorganismes attachés à la surface et aussi via la matrice conductrice du biofilm, tel qu'expliqué au chapitre 5. Ces deux mécanismes reposent sur l'action des cytochromes, protéines intramembranaires pouvant être interconnectées avec la matrice du biofilm. De plus, en comparant nos courbes de voltammétrie cyclique à d'autres études (Fricke *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2010; Richter *et al.*, 2009; Srikanth *et al.*, 2008), il ressort que l'espèce *Geobacter* est vraisemblablement responsable de la majeure partie de la génération d'électricité, d'autant plus qu'elle est reconnue pour utiliser les mécanismes de transfert d'électrons mentionnés ci-haut (Bond & Lovley, 2003; Debabov, 2008; Reguera *et al.*, 2006).

Tel que mentionné précédemment lors de la discussion de l'influence du taux de charge organique, l'activité de la pile est partiellement limitée par la diffusion des protons hors du biofilm. Le design de l'anode utilisée dans ces expérimentations, soit le feutre de carbone,

restreint en partie la circulation de l'électrolyte au travers de l'anode par ses fibres relativement resserrées. Ainsi, il est pensé qu'une amélioration du design de l'anode ou de la circulation de l'électrolyte pourrait réduire ou éliminer efficacement cette limitation.

Par les tests d'impédance électrochimique, on constate des réactions parasites causées par la présence d'acétate, de chlorures et/ou de phosphates dans l'électrolyte ayant lieu à la surface de l'anode et de la cathode, celles-ci augmentant substantiellement la résistance des deux électrodes. Malgré tous les tests électrochimiques ayant été effectués, il demeure toutefois ardu de démystifier complètement le rôle de chaque constituant de la solution. Toutefois, l'acétate influence grandement la présence de ces réactions parasites et la conductivité influence le déplacement des espèces en jeu qui sont mues par la diffusion (voir chapitre 5). La réaction d'oxydation et/ou de réduction des sels en solution a été constatée dans une seule autre étude (Ramasamy *et al.*, 2009) malgré l'utilisation grandissante de la technique de spectroscopie d'impédance électrochimique.

En plus des réactions parasitiques, on observe sur les matériaux de cathodes testés au chapitre 6 « *Cathode materials evaluation in microbial fuel cells : A comparison of carbon, Mn_2O_3 , Fe_2O_3 and platinum materials* » la présence d'une tierce boucle sur les spectres d'impédance électrochimique qu'on suppose être causée soit par la diffusion de l'oxygène ou des protons dans l'électrolyte et/ou le biofilm. En effet, quoique les matériaux d'électrodes évalués dans ce chapitre aient été choisis pour leur potentialité à stimuler le développement d'une biocathode, ceux-ci ont plutôt démontré une réactivité face à la réduction de l'oxygène durant la période de test. Donc, entrant en jeu dans la réaction cathodique, la résistance due au transport de l'oxygène gazeux et/ou des protons au sein de la pile peut être observée par les tests de spectroscopie d'impédance électrochimique.

Le tableau 7.7 présente la puissance et l'efficacité obtenues lors de l'évaluation de la performance des cathodes de carbone, Fe_2O_3 , Mn_2O_3 et Pt. On note que l'activité catalytique des matériaux va en augmentant du carbone à l'oxyde de fer, suivi de l'oxyde de manganèse pour terminer avec le platine dont l'excellente réactivité est reconnue. De plus, on note que la puissance et l'efficacité coulombique vont de pair, et que l'efficacité de l'enlèvement de la charge organique suit généralement cette tendance. En présence d'oxygène dans le compartiment cathodique, la performance des piles microbiennes augmente généralement, sauf dans le cas du platine. Cette

diminution n'est toutefois pas causée par une limitation de la réaction cathodique, mais plutôt par un manque d'électrons dû à l'activité limitée des microorganismes électrigènes établis à l'anode. La manifestation de ce phénomène peut être en partie expliquée par une plus grande présence d'oxygène dans la solution anodique qui dévie une quantité non négligeable d'électrons, de même que par la limitation de l'activité des microorganismes électrigènes à cause de l'accumulation de protons dans le biofilm, tel que discuté précédemment dans la section « Conditions d'opération et configuration des piles » de ce chapitre.

Tableau 7.7 : Puissance et efficacité obtenues avec des cathodes de carbone, Fe_2O_3 , Mn_2O_3 et Pt

Matériau	Atmosphère	P_{\max} (W m^{-3})	Efficacité coulombique (%)	Enlèvement de la charge organique (%)
C	Air (1 jour)	9,8	19,6	49,8
	Air (10 jours)	8,1	12,9	64,5
	O_2	12,7	15,0	69,9
Fe_2O_3	Air (1 jour)	18,9	20,6	69,8
	Air (10 jours)	15,4	24,2	71,1
	O_2	24,9	31,4	73,9
Mn_2O_3	Air (1 jour)	44,4	35,7	76,1
	Air (10 jours)	31,7	35,2	86,5
	O_2	45,1	42,6	99,4
Pt	Air (1 jour)	96,2	54,2	75,4
	Air (10 jours)	89,5	47,2	85,3
	O_2	83,2	45,3	83,2

Suite à l'insertion des cathodes testées dans la pile à combustible microbienne, l'exposition de l'électrolyte à l'air ambiant perturbe l'activité des microorganismes anaérobies, d'où une plus faible efficacité d'enlèvement de la charge organique au premier jour d'opération qui augmente avec le temps. Cet effet n'est pas observé pour le Fe_2O_3 car aux premiers jours, la pile microbienne n'était pas opérée à une résistance externe optimale. D'un autre côté, la diminution de la puissance et de l'efficacité coulombique est notée sur la même période. Cette diminution démontre que le biofilm formé à la surface de la cathode pendant ce court laps de temps n'est pas

actif au niveau de la réaction cathodique puisque la performance de la pile irait en s'améliorant dans un tel cas. Toutefois, l'étude pendant 3 mois d'une pile ayant une cathode de Mn_2O_3 a conduit au même résultat, le biofilm formé sur la cathode n'ayant montré aucun effet positif sur la performance de la pile microbienne. L'affirmation précédente est soutenue par les courbes de voltammétrie cyclique qui affichent que les cathodes accomplissent la réduction de l'oxygène, ainsi que par les tests effectués en présence d'oxygène pur dans le compartiment cathodique démontrant une performance supérieure tant au niveau de la puissance que de l'efficacité coulombique et d'enlèvement de la charge organique (tableau 7.7). La baisse de la performance des piles avec le temps peut être due à de multiples causes : 1) la présence de réactions parasitiques causées par les sels présents dans l'électrolyte ou encore par l'activité du biofilm formé sur la cathode; 2) la désactivation du catalyseur par toutes les composantes de la solution; et/ou 3) la perte de catalyseurs par dissolution dans l'électrolyte. L'effet de la solution sur la résistance cathodique a été discuté précédemment, l'effet négatif de la présence des microorganismes a été noté par des essais de voltammétrie cyclique en demi-cellule et la perte importante de manganèse a été mesurée par absorption atomique (plus de 500 ppm au premier jour) (voir le chapitre 6 pour les résultats détaillés). Il est aussi connu que le platine est facilement empoisonné par des composés en solution (Clauwaert *et al.*, 2008; Niessen *et al.*, 2004; Zhao *et al.*, 2006), il est donc fort probable que des composés bloquent les sites actifs des autres catalyseurs évalués.

Le Mn_2O_3 et le Fe_2O_3 ont été testés comme matériaux de cathodes dans des piles à combustible microbiennes pour la première fois dans notre étude, le carbone et le platine servant principalement de référence pour les résultats obtenus avec les oxydes métalliques. La comparaison des matériaux cathodiques de cet article laisse entrevoir le Mn_2O_3 comme un excellent matériau alternatif au platine dans une telle application, quoiqu'il existe différents aspects à améliorer au niveau de sa stabilité afin d'éviter son largage dans la solution ainsi qu'au niveau de son activité catalytique face à la réduction de l'oxygène.

7.3 Synthèse des résultats

Cette section compare les meilleures performances obtenues lors des multiples essais de nos piles à combustible microbiennes avec celles des autres groupes de recherche dans des conditions similaires. Cette comparaison nous permettra de conclure objectivement quant à la performance

du système utilisé. Comme il a été mentionné dans la première section de cette discussion générale, la variété de différences existant entre les multiples piles microbiennes ne permet pas une comparaison systématique, principalement lorsque les conditions d'opération sont variées. Dans ce cas précis, une comparaison doit plutôt être effectuée avec des conditions contrôles dans le même type de réacteur.

Dans cette optique, le tableau 7.8 présente la puissance générée par diverses piles microbiennes étudiées dans différents groupes de recherche. Cette comparaison, quoique toujours ardue d'interprétation, nous démontre la performance très intéressante du système utilisé dans cette thèse. En effet, la puissance maximale observée dans nos expérimentations se situe au-dessus de plusieurs travaux de recherche. Néanmoins, on voit que certains progrès peuvent être effectués pour améliorer significativement la performance, par exemple en procédant à une modification de surface de l'anode ou encore du design de la pile. Cette dernière option a été discutée précédemment lorsqu'il a été question d'améliorer le transport des protons au sein du biofilm formé à l'anode afin d'augmenter l'activité des microorganismes électrigènes, soit en modifiant le design de l'anode ou encore l'écoulement de l'électrolyte dans le réacteur. Il est à noter que la puissance de l'étude de Fan *et al.* (2007) a été recalculée afin d'être évaluée en fonction du volume total du compartiment anodique plutôt que du volume du compartiment rempli de liquide (volume vide de matériaux d'électrodes) comme il avait été fait. Aussi, la puissance importante produite par ces piles peut être attribuée en partie au fait que les piles de petits volumes démontrent toujours de meilleures performances.

Les comparaisons sont faites exclusivement sur la puissance pouvant être générée par les différentes piles, cette caractéristique étant très représentative de la performance des piles au niveau de l'efficacité de la production d'électricité. L'efficacité coulombique est très variable selon le substrat utilisé de même que la diversité des microorganismes en présence. De plus, l'efficacité d'enlèvement de la charge organique, quoique étant un paramètre très important pour caractériser le rendement des piles microbiennes, est la plupart du temps relativement élevé et convenable (soit plus de 80%).

Il est intéressant de mentionner ici que pour être compétitive avec le traitement conventionnel par digestion anaérobie produisant du méthane, il est estimé que la pile à combustible microbienne devrait pouvoir produire 400 W m^{-3} (Clauwaert *et al.*, 2008).

Tableau 7.8 : Comparaison de la puissance de piles à combustible microbiennes

Configuration de pile	Mode opératoire	Distance entre les électrodes	Matériau d'anode	Matériau de cathode	P_{\max} (W m ⁻³)	Référence
Une chambre sans membrane	En cuvette	4 cm	Papier de carbone	Platine	12,7	(Liu <i>et al.</i> , 2005b)
Deux chambres avec membrane	En continu	Inconnu (minimale)	Granules de graphite	K ₃ Fe(CN) ₆	48	(Rabaey <i>et al.</i> , 2005b)
Une chambre sans membrane	En continu	1 cm	Papier de carbone	Platine	51	(Cheng <i>et al.</i> , 2006b)
Une chambre sans membrane	En cuvette	1 cm	Brosse de carbone	CoTMPP	73	(Logan <i>et al.</i> , 2007)
Une chambre sans membrane	En cuvette	2 cm	Feutre de carbone traité à l'acide	Platine	96	(Zhu <i>et al.</i> , 2010)
Une chambre sans membrane	En continu	< 1 mm	Feutre de carbone	Platine	De 77,7 à 108,1	Cette étude
Une chambre sans membrane	En cuvette	2 cm	Papier de carbone traité à NH ₃	Platine	115	(Cheng & Logan, 2007b)
Une chambre sans membrane	En continu	~ 0,6 mm	Tissu de carbone	Platine	~ 362	(Fan <i>et al.</i> , 2007)

La comparaison des matériaux de cathodes évalués dans notre étude, soit le carbone, les oxydes de fer et de manganèse et le platine, avec des matériaux semblables étudiés par d'autres groupes de recherche est tout aussi complexe puisque non seulement les matériaux de cathodes peuvent influencer les performances des différents types de piles microbiennes, mais leur configuration et conditions d'opération peuvent tout autant en limiter la puissance générée. Toutefois, les tableaux 7.9 à 7.12 présentent diverses puissances obtenues dans différentes études utilisant des matériaux similaires. Il est important de noter que la puissance exposée dans ces tableaux pour les matériaux de cathodes testés dans la présente étude est prise après 10 jours d'insertion dans la

pile à combustible microbienne, celle-ci ayant décru entre la première et la 10^e journée d'opération.

Des cathodes de carbone ont été évaluées par diverses équipes de recherche. Dans ce cas-ci, il est difficile de comparer nos résultats avec ceux obtenus par d'autres groupes principalement par le fait que les autres cathodes testées consistaient en des matériaux plus épais que nos cathodes de carbone sous forme de papier, augmentant la puissance générée de par leur surface spécifique supérieure (Oh *et al.*, 2004). En effet, le carbone utilisé sous forme de granules, de brosse et de feutre mène à des puissances variant entre 2,6 et 68,4 W m⁻³ (tableau 7.9), comparativement à 8,1 W m⁻³ dans notre étude. De plus, il est mentionné que certaines de ces cathodes fonctionnent par l'activité microbienne du biofilm formé à la cathode. On peut toutefois conclure que notre pile microbienne avec une cathode au carbone fonctionne bien étant donné sa faible surface active en comparaison aux autres études, d'autant plus que les microorganismes n'interviennent pas dans la réaction cathodique.

Tableau 7.9 : Comparaison de la puissance de différentes cathodes de carbone

Forme de carbone	P _{max} (W m ⁻³)	Référence
Granules	2,6	(Chen <i>et al.</i> , 2010)
Feutre	3,32	(Liang <i>et al.</i> , 2009)
Granules	4,4	(Tran <i>et al.</i> , 2010)
Papier	8,1	Cette étude
Feutre	15,0	(Rabaey <i>et al.</i> , 2008)
Brosse	24,7	(Zhang <i>et al.</i> , 2008a)
Feutre	65,0	(Clauwaert <i>et al.</i> , 2007b)
Brosse	68,4	(You <i>et al.</i> , 2009)

De la même façon, la comparaison des performances de nos cathodes d'oxydes de manganèse avec celles d'autres études est ardue mais permet toutefois d'avoir une idée de la potentialité de nos électrodes comme matériaux cathodiques alternatifs. Le tableau 7.10 présente les résultats obtenus pour les cathodes d'oxydes de manganèse insérées dans des piles à combustible microbiennes dans diverses études, de même qu'un autre matériau à base de manganèse (MnPc).

Dans ce cas précis, nos cathodes ont démontré une puissance maximale nettement supérieure aux autres matériaux de cathodes testés. Malgré que les conditions d'opération et la configuration différentes des piles microbiennes utilisées dans chacune des études puissent causer une différence notable de la performance, de même que la composition des matériaux et oxydes, on peut conclure que la combinaison de notre design et nos cathodes mène à un rendement supérieur de nos piles, d'autant plus que la quantité de catalyseur déposé est inférieure aux autres études.

Tableau 7.10 : Comparaison de la puissance de différentes cathodes d'oxydes de manganèse

Matériau	P_{\max} (W m ⁻³)	Référence
MnO ₂	1,3	(Roche <i>et al.</i> , 2010)
MnO ₂	3,8	(Zhang <i>et al.</i> , 2009b)
MnPc	9,5	(HaoYu <i>et al.</i> , 2007)
Mn ₂ O ₃	31,7	Cette étude

Quant au Fe₂O₃, il est seulement possible de comparer ses performances avec d'autres catalyseurs contenant du fer, cet oxyde n'ayant jamais été testé comme matériaux de cathodes dans une pile à combustible microbienne. Une fois de plus, la différence de design des piles ne permet pas une comparaison objective de la performance du Fe₂O₃ comme matériau de cathode, tout comme le support de poudre de carbone pour le catalyseur (ex. : Ketjen Black ou Vulcan) ou encore le mode de fabrication des catalyseurs. Toutefois, l'étude effectuée par Birry *et al.* (2010) a été effectuée dans le même type de réacteur, permettant de conclure que le Fe₂O₃ ne possède pas une grande activité catalytique pour la réduction de l'oxygène (tableau 7.11).

Finalement, le tableau 7.12 présente quelques puissances obtenues pour des électrodes de platine dans des piles microbiennes similaires à la nôtre. On note la performance très acceptable des deux types d'électrodes de platine utilisés dans nos essais. Toutefois, l'étude de Birry *et al.* (2010) étant faite dans le même type de pile que celle de cette étude, on remarque que les cathodes commerciales démontrent des performances très variables. De plus, la technique de fabrication des électrodes (ex. : pulvérisation, peinture au pinceau) et les matériaux employés peuvent aussi générer des inhomogénéités, expliquant la différence importante entre les résultats d'encres commerciales et celles faites en laboratoire.

Tableau 7.11 : Comparaison de la puissance de différentes cathodes à base de fer

Matériau	P_{\max} (W m ⁻³)	Référence
FePc	13,88	(Zhao <i>et al.</i> , 2005)
FePc	14,3	(HaoYu <i>et al.</i> , 2007)
Fe ₂ O ₃	15,4	Cette étude
FePc	19,6	(Yuan <i>et al.</i> , 2010)
FeAc	30	(Birry <i>et al.</i> , 2010)
ClFeTMPP	62	(Birry <i>et al.</i> , 2010)
FePc	67,6	(Birry <i>et al.</i> , 2010)

Tableau 7.12 : Comparaison de la puissance de différentes cathodes de platine dans des piles microbiennes de configuration et conditions d'opération similaires

Matériau	P_{\max} (W m ⁻³)	Référence
Pt (encre faite en labo)	51	(Cheng <i>et al.</i> , 2006b)
Pt (E-TEK)	82	(Birry <i>et al.</i> , 2010)
Pt (encre faite en labo)	89,5	Cette étude
Pt (E-TEK) (meilleure performance observée)	108,1	Cette étude
Pt (encre faite en labo)	~ 362	(Fan <i>et al.</i> , 2007)

En résumé, notre système démontre des performances très intéressantes au niveau de l'efficacité de la génération d'électricité avec une cathode de platine, mais l'amélioration de certains points du système est encore à incrémenter pour atteindre la rentabilité économique des piles microbiennes.

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

En conclusion, il est important de rappeler que les objectifs fixés dans le cadre de cette thèse ont été atteints. Ainsi, les réactions électrochimiques siégeant à l'anode et la cathode, de même que la performance du système utilisé dans le cadre de cette thèse ont été évaluées afin d'identifier les limitations des piles et les améliorations pouvant y être apportées. En effet, une optimisation de la conductivité de la solution et de la charge organique de même que le contrôle systématique du pH et de la température de la pile en chauffant du côté cathodique peuvent d'abord conduire à une meilleure génération d'électricité en augmentant le ratio électricité/méthane et le transport des espèces actives en solution. De plus, le suivi étroit du développement du biofilm lors du démarrage de la pile mène plus rapidement à l'atteinte de performances supérieures en favorisant la prolifération des espèces électrigènes. Aussi, un écoulement d'électrolyte différent ou un design d'anode autre pourrait diminuer la limitation de courant causée par l'accumulation des protons dans le biofilm anodique. Toutes ces évaluations et optimisations permettent d'augmenter la puissance totale pouvant être générée par la pile à combustible microbienne.

L'application de traitements de surface sur l'anode a montré dans d'autres études une amélioration des performances des piles, une voie qui pourrait être explorée ou tout simplement appliquée dans nos piles pour en augmenter la puissance. Toutefois, le problème le plus limitant noté dans cette thèse est plutôt situé au niveau du développement de matériaux de cathodes n'utilisant pas de métaux précieux mais générant une puissance raisonnable. L'oxyde de manganèse a su montré des performances acceptables, mais beaucoup de travail doit être fait à ce niveau afin d'en augmenter l'activité catalytique tout en diminuant les pertes associées à ce matériau. Un travail futur pourrait donc consister à tester divers traitements (ex. : activation à l'acide) ou encore modifier la structure de l'oxyde, lui octroyant ainsi une grande stabilité pour éviter sa dissolution, ceci couplé à une activité catalytique de réduction de l'oxygène améliorée.

Aussi, un aspect non étudié ici mais étant souvent mis de l'avant comme étant une limitation majeure à l'implémentation de tels systèmes dans l'industrie est la production de piles microbiennes de grande dimension. En effet, l'agrandissement de notre système reste à être mis à l'étude car il a été souvent noté que les piles de grand volume présentent des performances inférieures à celles de petit volume. Une étude a analysé cet effet comme étant causé par la résistance interne de la pile, celle-ci étant reliée au volume rempli par les électrodes et

l'électrolyte (Clauwaert *et al.*, 2008). Il a aussi été montré que la puissance générée par une pile microbienne dont on augmentait la taille de l'anode n'était pas proportionnelle à la surface de l'anode, mais bien au logarithme de sa surface (Dewan, Beyenal & Lewandowski, 2008). Dans cette optique, une étude a conclu que l'agrandissement peut être plus efficace si l'empilement de plusieurs petites piles est effectué plutôt qu'en élargissant une pile individuelle (Ieropoulos *et al.*, 2008). Ainsi, une autre possibilité de développement de notre système est d'étudier son empilement en conservant le volume actuel, ou en l'augmentant très peu.

Les piles à combustible microbiennes démontrent trois avantages concrets comparativement au traitement aérobie conventionnel : 1) la production d'un produit utile (électricité); 2) l'aération de la solution n'est pas utile donc un besoin en électricité de moins; et 3) la réduction de la formation de biomasse dont on doit se débarrasser (Logan, 2009). Toutefois, une analyse de cycle de vie comparant le traitement anaérobie conventionnel et les piles à combustible microbiennes a démontré que ces dernières ne sont pas l'option apportant un bénéfice significatif de l'impact environnemental comparativement au traitement anaérobie. De plus, cette étude a utilisé des valeurs de performance n'étant toujours pas atteintes encore aujourd'hui et qui demeurent un défi, surtout lorsqu'il est question d'augmenter la taille des réacteurs. Toutefois, cette étude soutient que les perspectives et impacts positifs de ces systèmes justifient de pousser la recherche dans ce domaine (Foley, Rozendal, Hertle, Lant & Rabaey, 2010).

Cette étude précise que la meilleure option consiste à développer les piles à électrolyse microbiennes, celles-ci étant issues de simples modifications des piles à combustible microbiennes et générant des sous-produits utiles tel le peroxyde d'hydrogène, l'hydrogène ou encore le méthane à la cathode (Cheng & Logan, 2007a; Foley *et al.*, 2010; Tartakovsky, Manuel, Wang & Guiot, 2009). Ces piles à électrolyse microbiennes sont ainsi une autre option intéressante de la modification du système utilisé dans cette étude à être validée. De plus, il peut être intéressant du point de vue économique pour certaines entreprises d'effectuer l'enlèvement cathodique de certains métaux dans leurs effluents, tels l'uranium ou le cuivre.

Dans les deux types de piles microbiennes, il est essentiel de réduire le coût des cathodes et de développer des matériaux catalytiques sans métal précieux pour produire des systèmes à grande échelle pratiques et surtout économiques. Toutefois, il est trop tôt pour déterminer si et quand ces systèmes deviendront des méthodes efficaces et avantageuses pour le traitement des eaux usées et

le recouvrement d'énergie (Logan, 2009). Ainsi, d'autres options économiques envisageables à court terme pourraient consister au couplage d'une pile à combustible microbienne immergée directement dans un réacteur de traitement d'eaux usées aérobie (Cha, Choi, Yu, Kim & Kim, 2010) ou anaérobie (Min & Angelidaki, 2008). Ces alternatives nécessitent toutefois certaines adaptations et les infrastructures (digesteurs) pour être étudiées.

Pour résumer et conclure, cette étude a permis de mettre à jour diverses améliorations au niveau du design et des électrodes qui ont été apportées et d'autres devant être considérées, ces modifications ayant toutes pour résultat l'amélioration notable de la génération d'électricité de tels systèmes. Toutefois, de multiples avenues se dressent quant aux possibilités futures d'investigation et d'implémentation des piles à combustible microbiennes afin que celles-ci puissent être commercialisées: étudier de nouveaux catalyseurs cathodiques ou des réactions cathodiques autres que la réduction de l'oxygène dont la catalyse est très coûteuse énergétiquement, développer des piles de grand volume ou un empilement de piles, ou encore déployer des systèmes permettant leur insertion dans des installations existantes. Toutes les recherches effectuées dans ces domaines conduiront à une compréhension accrue du sujet, permettant d'avoir bon espoir de voir apparaître de tels systèmes dans notre environnement dans quelques années.

RÉFÉRENCES

- Aelterman, P., Freguia, S., Keller, J., Verstraete, W., & Rabaey, K. (2008a). The anode potential regulates bacterial activity in microbial fuel cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 78(3), 409-418.
- Aelterman, P., Rabaey, K., Pham, H. T., Boon, N., & Verstraete, W. (2006). Continuous Electricity Generation at High Voltages and Currents Using Stacked Microbial Fuel Cells. *Environmental Science & Technology*, 40(10), 3388-3394.
- Aelterman, P., Versichele, M., Genettello, E., Verbeken, K., & Verstraete, W. (2009). Microbial fuel cells operated with iron-chelated air cathodes. *Electrochimica acta*, 54(24), 5754-5760.
- Aelterman, P., Versichele, M., Marzorati, M., Boon, N., & Verstraete, W. (2008b). Loading rate and external resistance control the electricity generation of microbial fuel cells with different three-dimensional anodes. *Bioresource Technology*, 99(18), 8895-8902.
- Aldrovandi, A., Marsili, E., Stante, L., Paganin, P., Tabacchioni, S., & Giordano, A. (2009). Sustainable power production in a membrane-less and mediator-less synthetic wastewater microbial fuel cell. *Bioresource Technology*, 100(13), 3252-3260.
- Bard, A. J., & Faulkner, L. R. (2001). *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications* (2nd ed.). Toronto: John Wiley & Sons, Inc.
- Barsoukov, E., & Macdonald, J. R. (2005). *Impedance Spectroscopy - Theory, Experiment, and Applications*. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Behera, M., Jana, P. S., More, T. T., & Ghangrekar, M. M. (2010). Rice mill wastewater treatment in microbial fuel cells fabricated using proton exchange membrane and earthen pot at different pH. *Bioelectrochemistry*, 79(2), 228-233.
- Beliaev, A. S., Klingeman, D. M., Klappenbach, J. A., Wu, L., Romine, M. F., Tiedje, J. M., et al. (2005). Global Transcriptome Analysis of *Shewanella oneidensis* MR-1 Exposed to Different Terminal Electron Acceptors. *J. Bacteriol.*, 187(20), 7138-7145.

- Bennetto, H. P., Delaney, G. M., Mason, J. R., Roller, S. D., Stirling, J. L., & Thurston, C. F. (1985). The sucrose fuel cell: efficient biomass conversion using a microbial catalyst. *Biotechnology Letters*, 7(10), 699-704.
- Bergel, A., Féron, D., & Mollica, A. (2005). Catalysis of oxygen reduction in PEM fuel cell by seawater biofilm. *Electrochemistry Communications*, 7(9), 900-904.
- Biffinger, J.C., Byrd, J. N., Dudley, B. L., & Ringeisen, B. R. (2008). Oxygen exposure promotes fuel diversity for *Shewanella oneidensis* microbial fuel cells. *Biosensors and Bioelectronics*, 23(6), 820-826.
- Biffinger, J.C., Ray, R., Little, B., & Ringeisen, B. R. (2007). Diversifying Biological Fuel Cell Designs by Use of Nanoporous Filters. *Environ. Sci. Technol.*, 41(4), 1444-1449.
- Birry, L., Mehta, P., Jaouen, F., Dodelet, J. P., Guiot, S. R., & Tartakovsky, B. (2010). Application of iron-based cathode catalysts in a microbial fuel cell. *Electrochimica Acta*, 56(3), 1505-1511.
- Bond, D. R., & Lovley, D. R. (2003). Electricity production by *Geobacter sulfurreducens* attached to electrodes. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(3), 1548-1555.
- Borole, A., P. , Hamilton, C., Y. , Aaron, D., S. , & Tsouris, C. (2009). Investigating microbial fuel cell bioanode performance under different cathode conditions. *Biotechnology Progress*, 25(6), 1630-1636.
- Borole, A. P., Aaron, D., Hamilton, C. Y., & Tsouris, C. (2010). Understanding Long-Term Changes in Microbial Fuel Cell Performance Using Electrochemical Impedance Spectroscopy. *Environmental Science & Technology*, 44(7), 2740-2745.
- Busalmen, J., P. , Esteve-Núñez, A., Berná, A., & Feliu, J. M. (2008). C-Type Cytochromes Wire Electricity-Producing Bacteria to Electrodes. *Angewandte Chemie*, 120(26), 4952-4955.
- Calegaro, M. L., Lima, F. H. B., & Ticianelli, E. A. (2006). Oxygen reduction reaction on nanosized manganese oxide particles dispersed on carbon in alkaline solutions. *Journal of Power Sources*, 158(1), 735-739.
- Catal, T., Li, K., Bermek, H., & Liu, H. (2008a). Electricity production from twelve monosaccharides using microbial fuel cells. *Journal of Power Sources*, 175(1), 196-200.

- Catal, T., Xu, S., Li, K., Bermek, H., & Liu, H. (2008b). Electricity generation from polyalcohols in single-chamber microbial fuel cells. *Biosensors and Bioelectronics*, 24(4), 849-854.
- Cercado-Quezada, B., Delia, M.-L., & Bergel, A. (2010). Testing various food-industry wastes for electricity production in microbial fuel cell. *Bioresource Technology*, 101(8), 2748-2754.
- Cha, J., Choi, S., Yu, H., Kim, H., & Kim, C. (2010). Directly applicable microbial fuel cells in aeration tank for wastewater treatment. *Bioelectrochemistry*, 78(1), 72-79.
- Chae, K.-J., Choi, M.-J., Kim, K.-Y., Ajayi, F. F., Chang, I.-S., & Kim, I. S. (2010). Selective inhibition of methanogens for the improvement of biohydrogen production in microbial electrolysis cells. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(24), 13379-13386.
- Chaparro, A. M., Gallardo, B., Folgado, M. A., Martín, A. J., & Daza, L. (2009). PEMFC electrode preparation by electrospray: Optimization of catalyst load and ionomer content. *Catalysis Today*, 143(3-4), 237-241.
- Chaudhuri, S. K., & Lovley, D. R. (2003). Electricity generation by direct oxidation of glucose in mediatorless microbial fuel cells. *Nat Biotech*, 21(10), 1229-1232.
- Chen, G.-W., Cha, J.-H., Choi, S.-J., Lee, T.-H., & Kim, C.-W. (2010). Characterization of an open biocathode microbial fuel cell for electricity generation and effluent polish. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 27(3), 828-835.
- Chen, G.-W., Choi, S.-J., Lee, T.-H., Lee, G.-Y., Cha, J.-H., & Kim, C.-W. (2008). Application of biocathode in microbial fuel cells: cell performance and microbial community. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 79(3), 379-388.
- Cheng, K.Y., Ho, G., & Cord-Ruwisch, R. (2008). Affinity of Microbial Fuel Cell Biofilm for the Anodic Potential. *Environ. Sci. Technol.*, 42(10), 3828-3834.
- Cheng, S., Liu, H., & Logan, B. E. (2006a). Increased performance of single-chamber microbial fuel cells using an improved cathode structure. *Electrochemistry Communications*, 8(3), 489-494.

- Cheng, S., Liu, H., & Logan, B. E. (2006b). Increased Power Generation in a Continuous Flow MFC with Advective Flow through the Porous Anode and Reduced Electrode Spacing. *Environ. Sci. Technol.*, 40(7), 2426-2432.
- Cheng, S., Liu, H., & Logan, B. E. (2006c). Power Densities Using Different Cathode Catalysts (Pt and CoTMPP) and Polymer Binders (Nafion and PTFE) in Single Chamber Microbial Fuel Cells. *Environmental Science & Technology*, 40(1), 364-369.
- Cheng, S. & Logan, B. (2007a). Sustainable and efficient biohydrogen production via electrohydrogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(47), 18871-18873.
- Cheng, S. & Logan, B. E. (2007b). Ammonia treatment of carbon cloth anodes to enhance power generation of microbial fuel cells. *Electrochemistry Communications*, 9(3), 492-496.
- Chung, K., & Okabe, S. (2009). Continuous power generation and microbial community structure of the anode biofilms in a three-stage microbial fuel cell system. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 83(5), 965-977.
- Clauwaert, P., Aelterman, P., Pham, T., De Schamphelaire, L., Carballa, M., Rabaey, K., et al. (2008). Minimizing losses in bio-electrochemical systems: the road to applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 79(6), 901-913.
- Clauwaert, P., Rabaey, K., Aelterman, P., De Schamphelaire, L., Pham, T. H., Boeckx, P., et al. (2007a). Biological Denitrification in Microbial Fuel Cells. *Environmental Science & Technology*, 41(9), 3354-3360.
- Clauwaert, P., vanderHa, D., Boon, N., Verbeken, K., Verhaege, M., Rabaey, K., et al. (2007b). Open Air Biocathode Enables Effective Electricity Generation with Microbial Fuel Cells. *Environ. Sci. Technol.*, 41(21), 7564-7569.
- Clauwaert, P. & Verstraete, W. (2009). Methanogenesis in membraneless microbial electrolysis cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 82(5), 829-836.
- Cournet, A., Délia, M.-L., Bergel, A., Roques, C., & Bergé, M. (2010). Electrochemical reduction of oxygen catalyzed by a wide range of bacteria including Gram-positive. *Electrochemistry Communications*, 12(4), 505-508.

- Debabov, V. (2008). Electricity from microorganisms. *Microbiology*, 77(2), 123-131.
- Dekker, A., Heijne, A. T., Saakes, M., Hamelers, H. V. M., & Buisman, C. J. N. (2009). Analysis and Improvement of a Scaled-Up and Stacked Microbial Fuel Cell. *Environmental Science & Technology*, 43(23), 9038-9042.
- Deng, Q., Li, X., Zuo, J., Ling, A., & Logan, B. E. (2010). Power generation using an activated carbon fiber felt cathode in an upflow microbial fuel cell. *Journal of Power Sources*, 195(4), 1130-1135.
- Dewan, A., Beyenal, H., & Lewandowski, Z. (2008). Scaling up Microbial Fuel Cells. *Environmental Science & Technology*, 42(20), 7643-7648.
- Du, Z., Li, H., & Gu, T. (2007). A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. *Biotechnology Advances*, 25(5), 464-482.
- Dumas, C., Basseguy, R., & Bergel, A. (2008). Microbial electrocatalysis with *Geobacter sulfurreducens* biofilm on stainless steel cathodes. *Electrochimica acta*, 53(5), 2494-2500.
- Dumas, C., Mollica, A., Féron, D., Basséguy, R., Etcheverry, L., & Bergel, A. (2007). Marine microbial fuel cell: use of stainless steel electrodes as anode and cathode materials. *Electrochimica Acta*, 53(2), 468-473.
- Duteanu, N., Erable, B., Senthil Kumar, S. M., Ghangrekar, M. M., & Scott, K. (2010). Effect of chemically modified Vulcan XC-72R on the performance of air-breathing cathode in a single-chamber microbial fuel cell. *Bioresource Technology*, 101(14), 5250-5255.
- Ehrlich, H. L. (1996). How microbes influence mineral growth and dissolution. *Chemical Geology*, 132(1-4), 5-9.
- Erable, B., Duteanu, N., Kumar, S. M. S., Feng, Y., Ghangrekar, M. M., & Scott, K. (2009). Nitric acid activation of graphite granules to increase the performance of the non-catalyzed oxygen reduction reaction (ORR) for MFC applications. *Electrochemistry Communications*, 11(7), 1547-1549.
- Erable, B., Vandecandelaere, I., Faimali, M., Delia, M.-L., Etcheverry, L., Vandamme, P., et al. (2010). Marine aerobic biofilm as biocathode catalyst. *Bioelectrochemistry*, 78(1), 51-56.

- Fan, Y., Hu, H., & Liu, H. (2007). Enhanced coulombic efficiency and power density of air-cathode microbial fuel cells with an improved cell configuration. *Journal of Power Sources*, 171(2), 348-354.
- Fan, Y., Sharbrough, E., & Liu, H. (2008). Quantification of the Internal Resistance Distribution of Microbial Fuel Cells. *Environmental Science & Technology*, 42(21), 8101-8107.
- Feng, Y., Lee, H., Wang, X., Liu, Y., & He, W. (2010a). Continuous electricity generation by a graphite granule baffled air-cathode microbial fuel cell. *Bioresource Technology*, 101(2), 632-638.
- Feng, Y., Wang, X., Logan, B., & Lee, H. (2008). Brewery wastewater treatment using air-cathode microbial fuel cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 78(5), 873-880.
- Feng, Y., Yang, Q., Wang, X., & Logan, B. E. (2010b). Treatment of carbon fiber brush anodes for improving power generation in air-cathode microbial fuel cells. *Journal of Power Sources*, 195(7), 1841-1844.
- Flandin, L., Danerol, A. S., Bas, C., Claude, E., De-Moor, G., & Alberola, N. (2009). Characterization of the Degradation in Membrane Electrode Assemblies Through Passive Electrical Measurements. *Journal of the Electrochemical Society*, 156(10), B1117-B1123.
- Foley, J. M., Rozendal, R. A., Hertle, C. K., Lant, P. A., & Rabaey, K. (2010). Life Cycle Assessment of High-Rate Anaerobic Treatment, Microbial Fuel Cells, and Microbial Electrolysis Cells. *Environmental Science & Technology*, 44(9), 3629-3637.
- Franks, A.E., Malvankar, N., & Nevin, K. P. (2010). Bacterial biofilms: the powerhouse of a microbial fuel cell. *Biofuels*, 1(4), 589-604.
- Franks, A.E. & Nevin, K. P. (2010). Microbial fuel cells, a current review. *Energies*, 3, 899-919.
- Franks, A.E., Nevin, K. P., Jia, H., Izallalen, M., Woodard, T. L., & Lovley, D. R. (2009). Novel strategy for three-dimensional real-time imaging of microbial fuel cell communities: monitoring the inhibitory effects of proton accumulation within the anode biofilm. *Energy & Environmental Science*, 2(1), 113-119.

- Freguia, S., Rabaey, K., & Keller, J. (2007a). *Competition and Interaction between fermentation and electricity generation at microbial fuel cell anodes*. Paper presented at the 11th IWA World Congress on Anaerobic Digestion.
- Freguia, S. Rabaey, K., Yuan, Z., & Keller, J. r. (2007b). Electron and Carbon Balances in Microbial Fuel Cells Reveal Temporary Bacterial Storage Behavior During Electricity Generation. *Environmental Science & Technology*, 41(8), 2915-2921.
- Freguia, S. Rabaey, K., Yuan, Z., & Keller, J. r. (2008). Syntrophic Processes Drive the Conversion of Glucose in Microbial Fuel Cell Anodes. *Environmental Science & Technology*, 42(21), 7937-7943.
- Fricke, K., Harnisch, F., & Schroder, U. (2008). On the use of cyclic voltammetry for the study of anodic electron transfer in microbial fuel cells. *Energy & Environmental Science*, 1, 144-147.
- Gabrielli, C. (1998). *Identification of electrochemical processes by frequency response analysis* (No. 004/83): Solartron Analytical. (S. Analytical o. Document Number)
- Gil, G.-C., Chang, I.-S., Kim, B. H., Kim, M., Jang, J.-K., Park, H. S., et al. (2003). Operational parameters affecting the performance of a mediator-less microbial fuel cell. *Biosensors and Bioelectronics*, 18(4), 327-334.
- Gregory, K.B., Bond, D. R., & Lovley, D. R. (2004). Graphite electrodes as electron donors for anaerobic respiration. *Environmental Microbiology*, 6(6), 596-604.
- Gregory, K.B. & Lovley, D. R. (2005). Remediation and Recovery of Uranium from Contaminated Subsurface Environments with Electrodes. *Environmental Science & Technology*, 39(22), 8943-8947.
- Ha, P. T., Tae, B., & Chang, I. S. (2008). Performance and Bacterial Consortium of Microbial Fuel Cell Fed with Formate. *Energy Fuels*, 22(1), 164-168.
- HaoYu, E., Cheng, S., Scott, K., & Logan, B. (2007). Microbial fuel cell performance with non-Pt cathode catalysts. *Journal of Power Sources*, 171(2), 275-281.

- Harnisch, F., Wirth, S., & Schröder, U. (2009). Effects of substrate and metabolite crossover on the cathodic oxygen reduction reaction in microbial fuel cells: Platinum vs. iron(II) phthalocyanine based electrodes. *Electrochemistry Communications*, 11(11), 2253-2256.
- He, Z. & Angenent, L. T. (2006). Application of Bacterial Biocathodes in Microbial Fuel Cells. *Electroanalysis*, 18(19-20), 2009-2015.
- He, Z. Huang, Y., Manohar, A. K., & Mansfeld, F. (2008). Effect of electrolyte pH on the rate of the anodic and cathodic reactions in an air-cathode microbial fuel cell. *Bioelectrochemistry*, 74(1), 78-82.
- He, Z. & Mansfeld, F. (2009). Exploring the use of electrochemical impedance spectroscopy (EIS) in microbial fuel cell studies. *Energy & Environmental Science*, 2(2), 215-219.
- He, Z., Minteer, S. D., & Angenent, L. T. (2005). Electricity generation from artificial wastewater using an upflow microbial fuel cell. *Environmental Science & Technology*, 39(14), 5262-5267.
- He, Z., Shao, H., & Angenent, L. T. (2007). Increased power production from a sediment microbial fuel cell with a rotating cathode. *Biosensors and Bioelectronics*, 22(12), 3252-3255.
- He, Z., Wagner, N., Minteer, S. D., & Angenent, L. T. (2006). An Upflow Microbial Fuel Cell with an Interior Cathode: Assessment of the Internal Resistance by Impedance Spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.*, 40(17), 5212-5217.
- Heider, J., & Fuchs, G. (1997). Microbial Anaerobic Aromatic Metabolism. *Anaerobe*, 3(1), 1-22.
- Hernandez, M. E., & Newman, D. K. (2001). Extracellular electron transfer. *Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS)*, 58(11), 1562-1571.
- Huang, L. & Logan, B. (2008a). Electricity generation and treatment of paper recycling wastewater using a microbial fuel cell. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80(2), 349-355.
- Huang, L. & Logan, B. (2008b). Electricity production from xylose in fed-batch and continuous-flow microbial fuel cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80(4), 655-664.

- Huang, J. Sun, B., & Zhang, X. (2010). Electricity generation at high ionic strength in microbial fuel cell by a newly isolated *Shewanella marisflavi* EP1. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(4), 1141-1149.
- Huang, L. Zeng, R. J., & Angelidaki, I. (2008). Electricity production from xylose using a mediator-less microbial fuel cell. *Bioresource Technology*, 99(10), 4178-4184.
- Huheey, J. E., Keiter, E. A., & Keiter, R. L. (1993). *Inorganic Chemistry: Principles of structure and reactivity* (4th ed.). New York: Harper & Row.
- Ieropoulos, I., Greenman, J., & Melhuish, C. (2008). Microbial fuel cells based on carbon veil electrodes: Stack configuration and scalability. *International Journal of Energy Research*, 32(13), 1228-1240.
- Ieropoulos, I., Greenman, J., Melhuish, C., & Hart, J. (2005). Comparative study of three types of microbial fuel cell. *Enzyme and Microbial Technology*, 37(2), 238-245.
- Ishii, S., Hotta, S., & Watanabe, K. (2008). Methanogenesis versus electrogenesis: Morphological and phylogenetic comparisons of microbial communities. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 72(2), 286-294.
- Ishii, S., Watanabe, K., Yabuki, S., Logan, B. E., & Sekiguchi, Y. (2008). Comparison of Electrode Reduction Activities of *Geobacter sulfurreducens* and an Enriched Consortium in an Air-Cathode Microbial Fuel Cell. *Appl. Environ. Microbiol.*, 74(23), 7348-7355.
- Jadhav, G. S., & Ghangrekar, M. M. (2009). Performance of microbial fuel cell subjected to variation in pH, temperature, external load and substrate concentration. *Bioresource Technology*, 100(2), 717-723.
- Jung, S., & Regan, J. (2007). Comparison of anode bacterial communities and performance in microbial fuel cells with different electron donors. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 77(2), 393-402.
- Kiely, P., Call, D., Yates, M., Regan, J., & Logan, B. (2010). Anodic biofilms in microbial fuel cells harbor low numbers of higher-power-producing bacteria than abundant genera. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 88(1), 371-380.

- Kim, B.H., Chang, I., & Gadd, G. (2007). Challenges in microbial fuel cell development and operation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 76(3), 485-494.
- Kim, B.H., Ikeda, T., Park, H. S., Kim, H. J., Hyun, M. S., Kano, K., et al. (1999). Electrochemical activity of an Fe(III)-reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens* IR-1, in the presence of alternative electron acceptors. *Biotechnology Techniques*, 13(7), 475-478.
- Kim, J.R., Min, B., & Logan, B. E. (2005). Evaluation of procedures to acclimate a microbial fuel cell for electricity production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 68(1), 23-30.
- Lee, H.-S., Parameswaran, P., Kato-Marcus, A., Torres, C. I., & Rittmann, B. E. (2008). Evaluation of energy-conversion efficiencies in microbial fuel cells (MFCs) utilizing fermentable and non-fermentable substrates. *Wat. Res.*, 42(6-7), 1501-1510.
- Lee, H.-S., Torres, C. s. I., & Rittmann, B. E. (2009). Effects of Substrate Diffusion and Anode Potential on Kinetic Parameters for Anode-Respiring Bacteria. *Environmental Science & Technology*, 43(19), 7571-7577.
- Lefebvre, O., Al-Mamun, A., Ooi, W. K., Tang, Z., Chua, D. H. C., & Ng, H. Y. (2008). An insight into cathode options for microbial fuel cells. *Water Science & Technology*, 57(12), 2031-2037.
- Li, Fu, Q., Liao, Q., Zhu, X., Ding-Ding, Y., & Tian, X. (2009). Persulfate: A self-activated cathodic electron acceptor for microbial fuel cells. *Journal of Power Sources*, 194, 6.
- Li, Zhang, X., & Lei, L. (2008). Electricity production during the treatment of real electroplating wastewater containing Cr⁶⁺ using microbial fuel cell. *Process Biochemistry*, 43(12), 1352-1358.
- Liang, P., Fan, M., Cao, X., & Huang, X. (2009). Evaluation of applied cathode potential to enhance biocathode in microbial fuel cells. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 84(5), 794-799.
- Liang, P., Huang, X., Fan, M.-Z., Cao, X.-X., & Wang, C. (2007). Composition and distribution of internal resistance in three types of microbial fuel cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 77(3), 551-558.

- Liu, H., Cheng, S., & Logan, B. E. (2005a). Power generation in fed-batch microbial fuel cells as a function of ionic strength, temperature, and reactor configuration. *Environmental Science & Technology*, 39(14), 5488-5493.
- Liu, H., Cheng, S., & Logan, B. E. (2005b). Production of Electricity from Acetate or Butyrate Using a Single-Chamber Microbial Fuel Cell. *Environ. Sci. Technol.*, 39(2), 658-662.
- Liu, Y., Harnisch, F., Fricke, K., Schröder, U., Climent, V., & Feliu, J. M. (2010). The study of electrochemically active microbial biofilms on different carbon-based anode materials in microbial fuel cells. *Biosensors and Bioelectronics*, 25(9), 2167-2171.
- Liu, Y., Harnisch, F., Fricke, K., Sietmann, R., & Schröder, U. (2008). Improvement of the anodic bioelectrocatalytic activity of mixed culture biofilms by a simple consecutive electrochemical selection procedure. *Biosensors and Bioelectronics*, 24(4), 1006-1011.
- Liu, L., Li, F.-b., Feng, C.-h., & Li, X.-z. (2009). Microbial fuel cell with an azo-dye-feeding cathode. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(1), 175-183.
- Liu, H. & Logan, B. E. (2004). Electricity generation using an air-cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane. *Environmental Science & Technology*, 38(14), 4040-4046.
- Liu, H., Ramnarayanan, R., & Logan, B. E. (2004). Production of Electricity during Wastewater Treatment Using a Single Chamber Microbial Fuel Cell. *Environ. Sci. Technol.*, 38(7), 2281-2285.
- Liu, Z.-D., & Li, H.-R. (2007). Effects of bio- and abio-factors on electricity production in a mediatorless microbial fuel cell. *Biochemical Engineering Journal*, 36(3), 209-214.
- Logan, B. (2006). Microbial fuel cells convert corn waste into electricity. *Membrane Technology*, 2006(9), 10.
- Logan, B. (2008). *Microbial fuel cells*. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Logan, B. (2009). Energy sustainability of the water infrastructure (pp. 1-12). The Clarke Prize: National Water Research Institute.

- Logan, B., Cheng, S., Watson, V., & Estadt, G. (2007). Graphite Fiber Brush Anodes for Increased Power Production in Air-Cathode Microbial Fuel Cells. *Environmental Science & Technology*, 41(9), 3341-3346.
- Logan, B., Hamelers, B., Rozendal, R., Schröder, U., Keller, J., Freguia, S., et al. (2006). Microbial fuel cells: Methodology and technology. *Environmental Science & Technology*, 40(17), 5181-5192.
- Logan, B., Murano, C., Scott, K., Gray, N. D., & Head, I. M. (2005). Electricity generation from cysteine in a microbial fuel cell. *Water Research*, 39(5), 942-952.
- Lovley, D. R. (2008). The microbe electric: conversion of organic matter to electricity. *Current Opinion in Biotechnology*, 19(6), 564-571.
- Lowy, D. A., Tender, L. M., Zeikus, J. G., Park, D. H., & Lovley, D. R. (2006). Harvesting energy from the marine sediment-water interface. II Kinetic activity of anode materials. *Biosens. Bioelectron.*, 21(11), 2058-2063.
- Lu, A., Li, Y., Jin, S., Ding, H., Zeng, C., Wang, X., et al. (2009). Microbial Fuel Cell Equipped with a Photocatalytic Rutile-Coated Cathode. *Energy & Fuels*, 24(2), 1184-1190.
- Luo, H., Liu, G., Zhang, R., & Jin, S. (2009). Phenol degradation in microbial fuel cells. *Chemical Engineering Journal*, 147(2-3), 259-264.
- Lyon, D. Y., Buret, F., Vogel, T. M., & Monier, J.-M. (2010). Is resistance futile? Changing external resistance does not improve microbial fuel cell performance. *Bioelectrochemistry*, 78(1), 2-7.
- Manohar, A. K., Bretschger, O., Nealson, K. H., & Mansfeld, F. (2008a). The polarization behavior of the anode in a microbial fuel cell. *Electrochimica Acta*, 53(9), 3508-3513.
- Manohar, A. K., Bretschger, O., Nealson, K. H., & Mansfeld, F. (2008b). The use of electrochemical impedance spectroscopy (EIS) in the evaluation of the electrochemical properties of a microbial fuel cell. *Bioelectrochemistry*, 72(2), 149-154.
- Manohar, A. K., & Mansfeld, F. (2009). The internal resistance of a microbial fuel cell and its dependence on cell design and operating conditions. *Electrochimica Acta*, 54(6), 1664-1670.

- Mao, L., Zhang, D., Sotomura, T., Nakatsu, K., Koshiba, N., & Ohsaka, T. (2003). Mechanistic study of the reduction of oxygen in air electrode with manganese oxides as electrocatalysts. *Electrochimica acta*, 48(8), 1015-1021.
- Martin, E., Savadogo, O., Guiot, S. R., & Tartakovsky, B. (2010). The influence of operational conditions on the performance of a microbial fuel cell seeded with mesophilic anaerobic sludge. *Biochemical Engineering Journal*, 51(3), 132-139.
- Mehta, P., Hussain, A., Tartakovsky, B., Neburchilov, V., Raghavan, V., Wang, H., et al. (2010). Electricity generation from carbon monoxide in a single chamber microbial fuel cell. *Enzyme and Microbial Technology*, 46(6), 450-455.
- Min, B., & Angelidaki, I. (2008). Innovative microbial fuel cell for electricity production from anaerobic reactors. *Journal of Power Sources*, 180(1), 641-647.
- Min, B., Kim, J., Oh, S., Regan, J. M., & Logan, B. E. (2005). Electricity generation from swine wastewater using microbial fuel cells. *Water Research*, 39(20), 4961-4968.
- Min, B., & Logan, B. E. (2004). Continuous electricity generation from domestic wastewater and organic substrates in a flat plate microbial fuel cell. *Environmental Science & Technology*, 38(21), 5809-5814.
- Min, B., Román, Ó., & Angelidaki, I. (2008). Importance of temperature and anodic medium composition on microbial fuel cell (MFC) performance. *Biotechnology Letters*, 30(7), 1213-1218.
- Mohan, S.V., Raghavulu, S. V., Peri, D., & Sarma, P. N. (2009). Integrated function of microbial fuel cell (MFC) as bio-electrochemical treatment system associated with bioelectricity generation under higher substrate load. *Biosensors and Bioelectronics*, 24(7), 2021-2027.
- Mohan, S.V., Mohanakrishna, G., Reddy, B. P., Saravanan, R., & Sarma, P. N. (2008). Bioelectricity generation from chemical wastewater treatment in mediatorless (anode) microbial fuel cell (MFC) using selectively enriched hydrogen producing mixed culture under acidophilic microenvironment. *Biochemical Engineering Journal*, 39(1), 121-130.
- Mohanakrishna, G., Venkata Mohan, S., & Sarma, P. N. (2010). Bio-electrochemical treatment of distillery wastewater in microbial fuel cell facilitating decolorization and desalination along with power generation. *Journal of Hazardous Materials*, 177, 487-494.

- Moon, H., Chang, I. S., Jang, J. K., & Kim, B. H. (2005). Residence time distribution in microbial fuel cell and its influence on COD removal with electricity generation. *Biochemical Engineering Journal*, 27(1), 59-65.
- Moon, H., Chang, I. S., & Kim, B. H. (2006). Continuous electricity production from artificial wastewater using a mediator-less microbial fuel cell. *Bioresource Technology*, 97(4), 621-627.
- Morris, J. M., Jin, S., Wang, J., Zhu, C., & Urynowicz, M. A. (2007). Lead dioxide as an alternative catalyst to platinum in microbial fuel cells. *Electrochemistry Communications*, 9(7), 1730-1734.
- Mudliar, S., Banerjee, S., Vaidya, A., & Devotta, S. (2008). Steady state model for evaluation of external and internal mass transfer effects in an immobilized biofilm. *Bioresource Technology*, 99(9), 3468-3474.
- Nam, J.-Y., Kim, H.-W., Lim, K.-H., Shin, H.-S., & Logan, B. E. (2010). Variation of power generation at different buffer types and conductivities in single chamber microbial fuel cells. *Biosensors and Bioelectronics*, 25(5), 1155-1159.
- Niessen, J., Schröder, U., Rosenbaum, M., & Scholz, F. (2004). Fluorinated polyanilines as superior materials for electrocatalytic anodes in bacterial fuel cells. *Electrochemistry communications*, 6(6), 571-575.
- O'Hayre, R., Cha, S.-W., Colella, W., & Prinz, F. B. (2006). Fuel cell reaction kinetics. In *Fuel cell fundamentals* (pp. 59). Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons.
- Oh, S.E., Kim, J. R., Joo, J. H., & Logan, B. E. (2009). Effects of applied voltages and dissolved oxygen on sustained power generation by microbial fuel cells. *Water Sci. Technol.*, 60(5), 1311-1317.
- Oh, S.E. & Logan, B. E. (2005). Hydrogen and electricity production from a food processing wastewater using fermentation and microbial fuel cell technologies. *Water Research*, 39(19), 4673-4682.
- Oh, S.E. & Logan, B. E. (2007). Voltage reversal during microbial fuel cell stack operation. *Journal of Power Sources*, 167(1), 11-17.

- Oh, S.E., Min, B., & Logan, B. E. (2004). Cathode Performance as a Factor in Electricity Generation in Microbial Fuel Cells. *Environmental Science & Technology*, 38(18), 4900-4904.
- Park, H.S., Kim, B. H., Kim, H. S., Kim, H. J., Kim, G. T., Kim, M., et al. (2001). A Novel Electrochemically Active and Fe(III)-reducing Bacterium Phylogenetically Related to *Clostridium butyricum* Isolated from a Microbial Fuel Cell. *Anaerobe*, 7(6), 297-306.
- Park, H.I., Sanchez, D., Cho, S. K., & Yun, M. (2008). Bacterial Communities on Electron-Beam Pt-Deposited Electrodes in a Mediator-Less Microbial Fuel Cell. *Environ. Sci. Technol.*, 42(16), 6243-6249.
- Park, D.H. & Zeikus, J. G. (2003). Improved fuel cell and electrode designs for producing electricity from microbial degradation. *Biotechnology and Bioengineering*, 81(3), 348-355.
- Pham, T.H., Aelterman, P., & Verstraete, W. (2009). Bioanode performance in bioelectrochemical systems: recent improvements and prospects. *Trends in Biotechnology*, 27(3), 168-178.
- Pham, T.H., Boon, N., Aelterman, P., Clauwaert, P., De Schampelaire, L., Vanhaecke, L., et al. (2008). Metabolites produced by *Pseudomonas* sp. enable a Gram-positive bacterium to achieve extracellular electron transfer. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 77(5), 1119-1129.
- Picioreanu, C., Head, I. M., Katuri, K. P., van Loosdrecht, M. C. M., & Scott, K. (2007). A computational model for biofilm-based microbial fuel cells. *Water Research*, 41(13), 2921-2940.
- Potter, K. (1911). Electrical effects accompanying the decomposition of organic compounds. *Proceedings of the Royal Society B* 84, 260-276.
- Rabaey, K., Boon, N., Hofte, M., & Verstraete, W. (2005a). Microbial Phenazine Production Enhances Electron Transfer in Biofuel Cells. *Environ. Sci. Technol.*, 39(9), 3401-3408.
- Rabaey, K., Boon, N., Siciliano, S. D., Verhaege, M., & Verstraete, W. (2004). Biofuel cells select for microbial consortia that self-mediate electron transfer. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70(9), 5373-5382.

- Rabaey, K., Clauwaert, P., Aelterman, P., & Verstraete, W. (2005b). Tubular Microbial Fuel Cells for Efficient Electricity Generation. *Environ. Sci. Technol.*, 39(20), 8077-8082.
- Rabaey, K., Lissens, G., Siciliano, S. D., & Verstraete, W. (2003). A microbial fuel cell capable of converting glucose to electricity at high rate and efficiency. *Biotechnology Letters*, 25(18), 1531-1535.
- Rabaey, K., Ossieur, W., Verhaege, M., & Verstraete, W. (2005c). Continuous microbial fuel cells convert carbohydrates to electricity. *Water Science and Technology*, 52(1-2), 515-523.
- Rabaey, K., Read, S. T., Clauwaert, P., Freguia, S., Bond, P.L., Blackall, L.L., et al. (2008). Cathodic oxygen reduction catalyzed by bacteria in microbial fuel cells. *ISME J*, 2(5), 519-527.
- Rabaey, K. & Verstraete, W. (2005). Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. *Trends in Biotechnology*, 23(6), 291-298.
- Ramasamy, R.P., Gadhamshetty, V., Nadeau, L., J. , & Johnson, G., R. . (2009). Impedance spectroscopy as a tool for non-intrusive detection of extracellular mediators in microbial fuel cells. *Biotechnology and Bioengineering*, 104(5), 882-891.
- Ramasamy, R.P., Ren, Z., Mench, M. M., & Regan, J. (2008a). Microbial Fuel Cells for Wastewater Treatment. *ECS Transactions*, 11(32), 115-125.
- Ramasamy, R.P., Ren, Z., Mench, M. M., & Regan, J. M. (2008b). Impact of initial biofilm growth on the anode impedance of microbial fuel cells. *Biotechnology and Bioengineering*, 101(1), 101-108.
- Reguera, G., McCarthy, K. D., Mehta, T., Nicoll, J. S., Tuominen, M. T., & Lovley, D. R. (2005). Extracellular electron transfer via microbial nanowires. *Nature*, 435(7045), 1098-1101.
- Reguera, G., Nevin, K. P., Nicoll, J. S., Covalla, S. F., Woodard, T. L., & Lovley, D. R. (2006). Biofilm and Nanowire Production Leads to Increased Current in *Geobacter sulfurreducens* Fuel Cells. *Appl. Environ. Microbiol.*, 72(11), 7345-7348.

- Reimers, C. E., Girguis, P., Stecher, H. A., Tender, L. M., Ryckelynck, N., & Whaling, P. (2006). Microbial fuel cell energy from an ocean cold seep. *Geobiology*, 4(2), 123-136.
- Ren, Z., Ward, T. E., & Regan, J. M. (2007). Electricity Production from Cellulose in a Microbial Fuel Cell Using a Defined Binary Culture. *Environ. Sci. Technol.*, 41(13), 4781-4786.
- Rezaei, F., Richard, T. L., & Logan, B. E. (2008). Enzymatic hydrolysis of cellulose coupled with electricity generation in a microbial fuel cell. *Biotechnology and Bioengineering*, 101(6), 1163-1169.
- Richter, H., Nevin, K. P., Jia, H., Lowy, D. A., Lovley, D. R., & Tender, L. M. (2009). Cyclic voltammetry of biofilms of wild type and mutant *Geobacter sulfurreducens* on fuel cell anodes indicates possible roles of OmcB, OmcZ, type IV pili, and protons in extracellular electron transfer. *Energy & Environmental Science*, 2(5), 506-516.
- Rismani-Yazdi, H., Carver, S. M., Christy, A. D., & Tuovinen, O. H. (2008). Cathodic limitations in microbial fuel cells: An overview. *Journal of Power Sources*, 180(2), 683-694.
- Rismani-Yazdi, H., Christy, A. D., Dehority, B. A., Morrison, M., Yu, Z., & Tuovinen, O. H. (2007). Electricity generation from cellulose by rumen microorganisms in microbial fuel cells. *Biotechnology and Bioengineering*, 97(6), 1398-1407.
- Roche, I., Katuri, K., & Scott, K. (2010). A microbial fuel cell using manganese oxide oxygen reduction catalysts. *Journal of Applied Electrochemistry*, 40(1), 13-21.
- Roche, I., & Scott, K. (2009). Carbon-supported manganese oxide nanoparticles as electrocatalysts for oxygen reduction reaction (orr) in neutral solution. *Journal of Applied Electrochemistry*, 39(2), 197-204.
- Rodriguez, J., Batstone, D. J., Yuan, Z., & Rabaey, K. (2007). A *comprehensive model to investigate microbial fuel cells*. Paper presented at the 11th IWA World Congress on Anaerobic Digestion.
- Rosenbaum, M., Aulenta, F., Villano, M., & Angenent, L. T. (2010a). Cathodes as electron donors for microbial metabolism: Which extracellular electron transfer mechanisms are involved? *Bioresource Technology*, 102(1), 324-333.

- Rosenbaum, M., Cotta, M. A., & Angenent, L. T. (2010b). Aerated *Shewanella oneidensis* in continuously fed bioelectrochemical systems for power and hydrogen production. *Biotechnology and Bioengineering*, 105(5), 880-888.
- Rozendal, R. A., Jeremiasse, A. W., Hamelers, H. V. M., & Buisman, C. J. N. (2007). Hydrogen Production with a Microbial Biocathode. *Environmental Science & Technology*, 42(2), 629-634.
- Schroder, U. (2007). Anodic electron transfer mechanisms in microbial fuel cells and their energy efficiency. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 9(21), 2619-2629.
- SGL Group. (2010). Soft Felts for Thermal Insulation made of SIGRATHERM. *Products*, SGL Group. Consulté le 25 novembre 2010, tiré de <http://www.sglgroup.com/>
- Shukla, A. K., Suresh, P., Berchmans, S., & Rajendran, A. (2004). Biological fuel cells and their applications. *Current Science*, 87(4), 455-468.
- Srikanth, S., Marsili, E., Flickinger, M., C., & Bond, D., R. . (2008). Electrochemical characterization of *Geobacter sulfurreducens* cells immobilized on graphite paper electrodes. *Biotechnology and Bioengineering*, 99(5), 1065-1073.
- Strycharz, S. M., Woodard, T. L., Johnson, J. P., Nevin, K. P., Sanford, R. A., Löffler, F. E., et al. (2008). Graphite Electrode as a Sole Electron Donor for Reductive Dechlorination of Tetrachlorethene by *Geobacter lovleyi*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 74(19), 5943-5947.
- Sun, J., Hu, Y., Bi, Z., & Cao, Y. (2009). Improved performance of air-cathode single-chamber microbial fuel cell for wastewater treatment using microfiltration membranes and multiple sludge inoculation. *Journal of Power Sources*, 187(2), 471-479.
- Sun, J.J., Zhao, H.-Z., Yang, Q.-Z., Song, J., & Xue, A. (2010). A novel layer-by-layer self-assembled carbon nanotube-based anode: preparation, characterization, and application in microbial fuel cell. *Electrochimica Acta*, 55, 3041-3047.
- Tandukar, M., Huber, S. J., Onodera, T., & Pavlostathis, S. G. (2009). Biological Chromium(VI) Reduction in the Cathode of a Microbial Fuel Cell. *Environmental Science & Technology*, 43(21), 8159-8165.

- Tartakovsky, B., & Guiot, S. R. (2006). A comparison of air and hydrogen peroxide oxygenated microbial fuel cell reactors. *Biotechnology Progress*, 22(1), 241-246.
- Tartakovsky, B., Manuel, M. F., Wang, H., & Guiot, S. R. (2009). High rate membrane-less microbial electrolysis cell for continuous hydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(2), 672-677.
- ter Heijne, A., Hamelers, H. V. M., Saakes, M., & Buisman, C. J. N. (2008). Performance of non-porous graphite and titanium-based anodes in microbial fuel cells. *Electrochimica Acta*, 53(18), 5697-5703.
- Thygesen, A., Poulsen, F. W., Min, B., Angelidaki, I., & Thomsen, A. B. (2009). The effect of different substrates and humic acid on power generation in microbial fuel cell operation. *Bioresource Technology*, 100(3), 1186-1191.
- Torres, C., I. , Marcus, A. K., Lee, H.-S., Parameswaran, P., Krajmalnik-Brown, R., & Rittmann, B., E. . (2009). A kinetic perspective on extracellular electron transfer by anode-respiring bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 34(1), 3-17.
- Torres, C., I. , Marcus, A. K., & Rittmann, B., E. (2008). Proton transport inside the biofilm limits electrical current generation by anode-respiring bacteria. *Biotechnology and Bioengineering*, 100(5), 872-881.
- Tran, H.-T., Ryu, J.-H., Jia, Y.-H., Oh, S.-J., Choi, J.-Y., Park, D.-H., et al. (2010). Continuous bioelectricity production and sustainable wastewater treatment in a microbial fuel cell constructed with non-catalyzed granular graphite electrodes and permeable membrane. *Water Science & Technology*, 61(7), 1819-1827.
- Tsai, H.-Y., Wu, C.-C., Lee, C.-Y., & Shih, E. P. (2009). Microbial fuel cell performance of multiwall carbon nanotubes on carbon cloth as electrodes. *Journal of Power Sources*, 194(1), 199-205.
- Veer Raghavulu, S., Venkata Mohan, S., Venkateswar, M., Mohanakrishna, G., & Sarma, P. N. (2009). Behavior of single chambered mediatorless microbial fuel cell (MFC) at acidophilic, neutral and alkaline microenvironments during chemical wastewater treatment. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34, 7547-7554.

- Viridis, B., Rabaey, K., Yuan, Z., & Keller, J. (2008). Microbial fuel cells for simultaneous carbon and nitrogen removal. *Water Research*, 42(12), 3013-3024.
- Walker, A. L., & Walker, J. C. W. (2006). Biological fuel cell and an application as a reserve power source. *Journal of Power Sources*, 160(1), 123-129.
- Wang, B. (2005). Recent development of non-platinum catalysts for oxygen reduction reaction. *Journal of Power Sources*, 152, 1-15.
- Wang, X., Feng, Y. J., & Lee, H. (2008). Electricity production from beer brewery wastewater using single chamber microbial fuel cell. *Water Science and Technology*, 57(7), 1117-1121.
- Wang, G., Huang, L., & Zhang, Y. (2008). Cathodic reduction of hexavalent chromium [Cr(VI)] coupled with electricity generation in microbial fuel cells. *Biotechnology Letters*, 30(11), 1959-1966.
- Wang, Z., Lim, B., Lu, H., Fan, J., & Choi, C. (2010). Cathodic reduction of Cu²⁺ and electric power generation using a microbial fuel cell. *Bull. Korean Chem. Soc.*, 31(7), 2025-2030.
- Wen, Q., Kong, F., Ma, F., Ren, Y., & Pan, Z. (2011). Improved performance of air-cathode microbial fuel cell through additional Tween 80. *Journal of Power Sources*, 196(3), 899-904.
- Woodward, L., Perrier, M., Srinivasan, B., Pinto, R. P., & Tartakovsky, B. (2010). Comparison of real-time methods for maximizing power output in microbial fuel cells. *AIChE Journal*, 56(10), 2742-2750.
- Woodward, L., Tartakovsky, B., Perrier, M., & Srinivasan, B. (2009). Maximizing power production in a stack of microbial fuel cells using multiunit optimization method. *Biotechnology Progress*, 25(3), 676-682.
- Yang, S., Jia, B., & Liu, H. (2009). Effects of the Pt loading side and cathode-biofilm on the performance of a membrane-less and single-chamber microbial fuel cell. *Bioresource Technology*, 100(3), 1197-1202.

- You, S.J., Ren, N. Q., Zhao, Q. L., Wang, J. Y., & Yang, F. L. (2009). Power Generation and Electrochemical Analysis of Biocathode Microbial Fuel Cell Using Graphite Fibre Brush as Cathode Material. *Fuel Cells*, 9(5), 588-596.
- You, S., Zhao, Q., Zhang, J., Jiang, J., Wan, C., Du, M., et al. (2007). A graphite-granule membrane-less tubular air-cathode microbial fuel cell for power generation under continuously operational conditions. *Journal of Power Sources*, 173(1), 172-177.
- You, S., Zhao, Q., Zhang, J., Jiang, J., & Zhao, S. (2006). A microbial fuel cell using permanganate as the cathodic electron acceptor. *Journal of Power Sources*, 162(2), 1409-1415.
- Yuan, Y., Zhou, S., & Zhuang, L. (2010). Polypyrrole/carbon black composite as a novel oxygen reduction catalyst for microbial fuel cells. *Journal of Power Sources*, 195(11), 3490-3493.
- Zhang, F., Cheng, S., Pant, D., Bogaert, G. V., & Logan, B. E. (2009a). Power generation using an activated carbon and metal mesh cathode in a microbial fuel cell. *Electrochemistry Communications*, 11(11), 2177-2179.
- Zhang, L., Liu, C., Zhuang, L., Li, W., Zhou, S., & Zhang, J. (2009b). Manganese dioxide as an alternative cathodic catalyst to platinum in microbial fuel cells. *Biosensors and Bioelectronics*, 24(9), 2825-2829.
- Zhang, P.Y. & Liu, Z.-L. (2010). Experimental study of the microbial fuel cell internal resistance. *Journal of Power Sources*, 195(24), 8013-8018.
- Zhang, Y., Min, B., Huang, L., & Angelidaki, I. (2011). Electricity generation and microbial community response to substrate changes in microbial fuel cell. *Bioresource Technology*, 102(2), 1166-1173.
- Zhang, E., Xu, W., Diao, G., & Shuang, C. (2006). Electricity generation from acetate and glucose by sedimentary bacterium attached to electrode in microbial-anode fuel cells. *Journal of Power Sources*, 161(2), 820-825.
- Zhang, J.N., Zhao, Q.-L., Aelterman, P., You, S.-J., & Jiang, J.-Q. (2008a). Electricity generation in a microbial fuel cell with a microbially catalyzed cathode. *Biotechnology Letters*, 30(10), 1771-1776.

- Zhang, L., Zhou, S., Zhuang, L., Li, W., Zhang, J., Lu, N., et al. (2008b). Microbial fuel cell based on *Klebsiella pneumoniae* biofilm. *Electrochemistry Communications*, 10, 1641-1643.
- Zhao, F., Harnisch, F., Schroder, U., Scholz, F., Bogdanoff, P., & Herrmann, I. (2006). Challenges and Constraints of Using Oxygen Cathodes in Microbial Fuel Cells. *Environmental Science & Technology*, 40(17), 5193-5199.
- Zhao, F., Harnisch, F., Schröder, U., Scholz, F., Bogdanoff, P., & Herrmann, I. (2005). Application of pyrolysed iron(II) phthalocyanine and CoTMPP based oxygen reduction catalysts as cathode materials in microbial fuel cells. *Electrochemistry Communications*, 7(12), 1405-1410.
- Zhao, F., Rahunen, N., Varcoe, J. R., Roberts, A. J., Avignone-Rossa, C., Thumser, A. E., et al. (2009). Factors affecting the performance of microbial fuel cells for sulfur pollutants removal. *Biosensors and Bioelectronics*, 24(7), 1931-1936.
- Zhao, Y., Watanabe, K., Nakamura, R., Mori, S., Liu, H., Ishii, K., et al. (2010). Three-dimensional conductive nanowire networks for maximizing anode performance in microbial fuel cells. *Chem.Eur.J.*, 16, 4982-4985.
- Zhu, N., Chen, X., Zhang, T., Wu, P., Li, P., & Wu, J. (2010). Improved performance of membrane free single-chamber air-cathode microbial fuel cells with nitric acid and ethylenediamine surface modified activated carbon fiber felt anodes. *Bioresource Technology*, 102(1), 422-426.